Zur Strukturaufklärung der Abwehrstoffe der Trinervitermes-Soldaten

von

Hans Schübel

aus Nürnberg

1962

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536528_0035

ZUR STRUKTURAUFKLÄRUNG DER ABWEHRSTOFFE DER TRINERVITERMES-SOLDATEN

Inauguraldissertation

der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich - Alexander - Universität
Erlangen - Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Hans Schübel
aus Nürnberg

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen - Nürnberg

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Mai 1963

Dekan: Universitätsprofessor Dr. H. Volz
Berichterstatter: Privatdozent Dr. H. Schildknecht
Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. G. Hesse

Meinem verehrten Lehrer,

Herrn Privatdozenten Dr. H. Schildknecht,

danke ich sehr für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die zahlreichen Ratschläge und die stets gewährte Hilfe bei ihrer Durchführung.

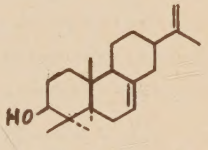
Die vorliegende Arbeit wurde am
Institut für Organische Chemie der
Friedrich - Alexander - Universität
Erlangen - Nürnberg
in der Zeit von Januar 1960 bis Dezember 1962
angefertigt.

ZUSAMMENFASSUNG

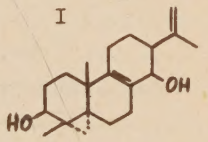
Aus dem Kopfdrüsensekret von Trinervitermes-Soldaten konnten wir durch präparative Dünnschichtchromatographie sechs verschiedene Substanzen isolieren. Die Substanz A ist als einzige flüssig und dient als Lösungsmittel für die restlichen Bestandteile des Sekrets.

Die Substanzen B und D konnten kristallin erhalten werden. B ist ein Diterpenalkohol von der Formel $C_{20}H_{32}O$ (MG 288; Fp 125,5 - 127°). Für ihn wurde aufgrund IR-spektroskopischer, massenspektrometrischer und chemischer Untersuchungsergebnisse die Struktur I vorgeschlagen.

D, die zweite kristalline Substanz des Sekrets, ist ein Oxydationsprodukt von B. Es enthält eine OH-Gruppe mehr als dieses. Durch milde Oxydation von D und anschliessende UV-spektroskopische Untersuchung der Oxydationsprodukte wurde sie dem C-14 zugeschrieben. Die Substanz D hat die Summenformel $C_{20}H_{32}O_2$ (MG 3o4; Fp 64 - 68° und 138°), ihr wurde die Struktur II zugeordnet.



I



II

Die Substanzen C, E und F konnten nur als Harze erhalten werden. C mit einem Molekulargewicht von 3oo tritt nur in geringer Menge im Sekret auf und ist mit dem Lösungsmittel A nahe verwandt. Wahrscheinlich besitzt es einen grossen, verzweigten aliphatischen Anteil.

Die Substanz E ist ein 3-Acetoxy-7-Keton vom Molekulargewicht 3o2. Durch alkalische Hydrolyse erfolgte Abspaltung von Essigsäure, die papierchromatographisch nachgewiesen werden konnte.

Die Substanz F schliesslich ist ein Glycosid, aus dem durch saure Hydrolyse Glucose, Xylose und Mannose erhalten und papierchromatographisch nachgewiesen werden konnten.

Bei der Selendehydrierung liefern die Substanzen B, D, E und F Phenanthrenderivate, wodurch für diese Verbindungen das Vorliegen eines polycyclischen Grundgerüstes nachgewiesen ist. C gibt unter den Bedingungen der Selendehydrierung kein mehrkerniges aromatisches System.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

I. Theoretischer Teil.

1. Einleitung.....1

2. Chemische Voruntersuchungen
   21. Das Ausgangsmaterial und die Sekretgewinnung.....3
   22. Vorversuche.....3

3. Die Trennung.....6

4. Besprechung der sechs Trinervitermes-Substanzen
   41. Substanz A.....9
      411. IR-Spektrum der Substanz A.....9
      412. Massenspektrum der Substanz A.....12
   42. Substanz B.....14
      421. IR-Spektrum der Substanz B.....15
      422. Massenspektrum der Substanz B.....18
      423. Untersuchung der Substanz B mit chemischen Methoden.....21
   43. Substanz C.....32
      431. IR-Spektrum der Substanz C.....32
   44. Substanz D.....34
      441. IR-Spektrum der Substanz D.....34
      442. Massenspektrum der Substanz D.....37
      443. Untersuchung der Substanz D mit chemischen Methoden.....4o
   45. Substanz E.....48
   46. Substanz F.....53

II. Experimenteller Teil.

1. Extraktion der Soldatenköpfe.....56

2. Vorversuche.....56
   21. UV- und IR-spektroskopische Untersuchungen.....56
   22. Salkowski-Reaktion.....56

23. Reaktion nach Liebermann-Burchard.....57
24. Reaktion mit Benzoylperoxyd und conc.Schwefelsäure.....57
25. Reaktion mit Acetylchlorid und $ZnCl_2$.....57
26. Halphen-Hicks-Test.....57

3. Die Trennung.....57
31. Herstellung rückstandfreien Äthers.....58

4. Die sechs Trinervitermes-Substanzen
41. Substanz A
411. Massenspektrum der Substanz A.....59
42. Substanz B; Zonenreinigen und CH-Analyse.....59
421. Berechnung des Methylgehaltes aus den CH-Banden...6o
422. Massenspektrum der Substanz B.....6o
423. Untersuchung der Substanz B mit chemischen Methoden.....6o
4231. Katalytische Hydrierung von B.....6o
4232. Acetylierung der Substanz VI.....62
4233. Reaktion mit Tetranitromethan.....62
4234. Reaktion mit Selendioxyd.....62
4235. Berechnung des Methylgehaltes von VI.....63
4236. Oxydation von VI mit CrO_3 in Aceton.....63
4237. Selendehydrierung der Substanz B.....64
43. Substanz C
432. Massenspektrum der Substanz C.....66
44. Substanz D
441. Berechnung des Methylgehaltes aus den CH-Banden...66
442. Massenspektrum der Substanz D.....66
443. Untersuchungen der Substanz D mit chemischen Methoden.....67
4431. CH-Analyse der Substanz D.....67
4432. Azetylierung der Substanz D.....67
4433. Katalytische Hydrierung der Substanz D.....67
4434. Reaktion mit Tetranitromethan.....68
4435. Reaktion mit Selendioxyd.....68
4436. Oxydation von Dihydro-D mit CrO_3 in Aceton..68
4437. Selendehydrierung der Substanz D.....68
45. Substanz E
451. Alkalische Verseifung der Substanz E.....69

452. 2,4-Dinitrophenylhydrazone aus E.....70
453. Selendehydrierung der verseiften Substanz E.....71
454. Reaktion mit Tetranitromethan.....71
455. Massenspektrum der Substanz E.....71
46. Substanz F
461. Energische saure Hydrolyse der Substanz F.....72
462. Reaktion mit Tetranitromethan.....73
463. Selendehydrierung des Genins aus F.....73

III. Literaturverzeichnis.....74

THEORETISCHER TEIL.

1. Einleitung.

Die Nasutitermitinae, eine Unterfamilie der Termitidae, findet man praktisch überall in den tropischen Regionen. Am artenreichsten sind sie an ihrem vermutlichen Entstehungszentrum, dem südamerikanischen Kontinent, vertreten, wo man sowohl die primitivsten Nasutis, wie auch die meisten abgeleiteten Genera antrifft. Über Indomalaiia nach Afrika hin nimmt die Zahl der Nasutitermitinae-Arten immer mehr ab, woraus man auf die Ausbreitungsrichtung dieser Termiten schliesst.

In Afrika schliesslich haben sich schon eigene Gattungen gebildet, von denen die Trinervitermes besonderer Erwähnung bedürfen. Sie haben sich dort als eine besondere Steppenform entwickelt, während sonst die Nasutitermitinae Waldbewohner sind, deren aus Holzkarton gebaute Nester man dementsprechend auch meistens auf Bäumen findet.

Zusammen mit den Nasutitermes, eine weitere in Afrika vorkommende Art, gehören die Trinervitermes zu jenen Nasutitermitinae-Gattungen, deren Soldaten anstelle der sonst üblichen Kiefernzangen eine grosse Spritze als Waffe besitzen. Bei ihnen nimmt die Stirndrüse den grössten Teil des Kopfes ein, der nach vorne rüsselförmig zum sog. Rostrum ausgezogen ist. In dieser Drüse produzieren und speichern die Soldaten jenes Sekret, welches sie durch die Kanüle des Rostrums pressen und gegen den Feind schleudern, wenn eine Verteidigung des Termitenstaates notwendig wird.
Eine eingehende Schilderung dieses Spritzaktes und der Wirkungen des Sekrets bei den Nasutitermes-Soldaten gibt Ernst (1) vom Schweizerischen Tropeninstitut in Basel, der in der hier beschriebenen Gemeinschaftsarbeit die biologische Seite des Problems bearbeitete.

Über die chemische Natur dieses anfangs dünnflüssigen, dann an der Luft immer zäher und harziger werdenden und schliesslich zu einem klaren glasigen Körper erstarrenden Kopfdrüsensekrets der Nasensoldaten war noch nichts bekannt , als wir mit der Untersuchung des Sekrets der Trinervitermes-Soldaten begannen, die aus Tanganjika stammten und uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. R. Geigy überlassen wurden.

2. Chemische Untersuchungen.

21. Das Ausgangsmaterial und die Sekretgewinnung.

Für unsere Untersuchungen erhielten wir, direkt aus Tanganjika importiert, die in absolutem Äthanol konservierten Köpfe von etwa 1ooo bis 2ooo Trinervitermes-Soldaten. Die äthanolische Lösung war gelblich und hatte einen eigenartigen, etwa an Campher oder ätherische Öle erinnernden Geruch. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels erscheint das Sekret als eine in geringer Schichtdicke farblose, harzige zähe Substanz, die bei längerem Stehen an der Luft oder auch unter Stickstoff immer zäher wird, bis sie schliesslich zu einem Glas erstarrt, das sich durch keinerlei Kunstgriffe zur Kristallisation bewegen lässt. Der so erhaltene Anteil des Sekrets zeigte eine ganz ausgezeichnete Löslichkeit in Äthanol, was wir für die weitere Aufarbeitung der Soldatenköpfe ausnutzten.
Diese zerrieben wir unter absolutem Äthanol. Das Chitin, das Eiweis aus den Drüsenzellen sowie das vorhandene Fett blieben als Flocken ungelöst zurück und liessen sich leicht durch Filtration von der alkoholischen Sekretlösung abtrennen.
Weitere Extraktionsversuche mit dem Rückstand blieben erfolglos, lediglich mit Chloroform oder anderen lipophilen Lösungsmitteln erhielten wir geringe Mengen von Fett, die aber offensichtlich nicht zum eigentlichen Sekret gehörten, sondern zum Körperfett der Termiten.
So gewannen wir etwa 5 ml einer äthanolischen Lösung des Rohsekrets, die wir sorgfältig unter Verschluss hielten, damit eventuell leicht flüchtige Substanzen nicht verloren gingen.

22. Vorversuche.

Unser erstes Bestreben musste sein, die Substanzklasse herauszufinden, zu der die Termitenabwehrsubstanz gehört. Um hierfür möglichst wenig Material zu verwenden und um dieses nach Möglichkeit wiederzugewinnen, bedienten wir uns zuerst der spektroskopischen Methoden.

Aus dem Spektrum des sorgfältig getrochneten Trinervitermes -

Rohsekrets kann man sofort erkennen, dass das Sekret organischer Natur ist, jedoch nicht zu den Aromaten gehört, da die -CH-Valenzschwingungen bei 2941 K (3,4o μ) sehr stark ausgeprägt sind, während die charakteristischen Aromatenschwingungen vollkommen fehlen, Abbildung 1. Die kleine Bande bei 3o67 K (3,26 μ) deutet in Verbindung mit den Absorptionen bei 1631 K (6,13 μ) und 887 K (11,28 μ) auf eine $=C=CH_2$-Gruppe hin und die Banden bei 339o K (2,95 μ) und 1o24 K (9,77 μ) sprechen für eine OH-Gruppe.

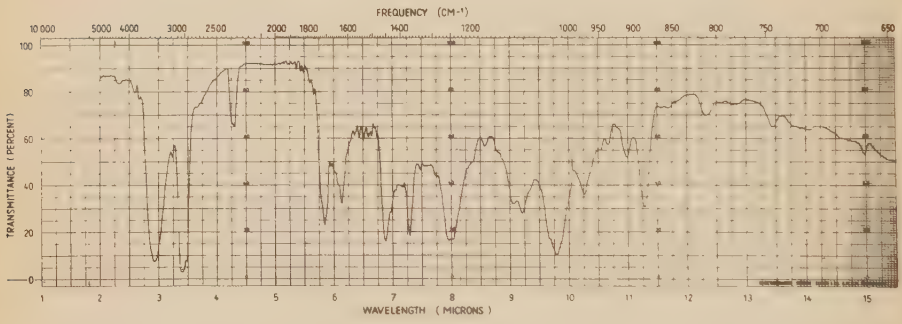


Abb.1. IR-Absorptionsspektrum des harzigen Trinervitermes-Rohsekrets, fest in KBr. Mikropressling 1,5 mm ø.

Im Carbonylgebiet finden wir eine Bande bei 1712 K (5,84 μ), deren Ursache ein Keton sein könnte, und eine Inflexion bei 1727 K (5,79 μ), die zusammen mit der stärkeren Bande bei 125o K (8,oo μ) einem Ester zuzuschreiben wäre.
Mit einiger Sicherheit kann man jetzt nur noch die Banden bei 1456 K (6,87 μ) und 1372 K (7,29 μ) als die asymmetrische und die symmetrische $C-CH_3$ - Deformationsschwingungen erkennen, die restlichen Banden sind nicht so ohne weiteres deutbar.

Zur Unterstützung der IR-spektroskopischen Befunde nahmen wir noch die UV-Absorptionskurve des Trinervitermes-Rohsekrets auf, Abb. 2, die ein steiles, scharf ausgeprägtes Maximum bei 2o7 mμ

und ein wesentlich flacheres, weniger scharfes Maximum bei 252 - 253 mμ zeigt.

Die Kurzwellige Absorption bei 207 mμ deutet auf eine isolierte, wohl aber substituierte Doppelbindung hin, wie man sie in der Steriodchemie antrifft (2).

Abb.2. UV-Absorptionsspektrum des Trinervitermes-Rohsekrets in Äthanol.

Für die langwellige UV-Absorption stehen natürlich wieder einige Möglichkeiten zur Auswahl, die aber durch das IR-Spektrum sehr stark eingeschränkt wird. Auf Grund der scharfen Absorption im Keto - Carbonyl-Gebiet bei 1712 K (5,84 μ) lässt sich die UV-Bande bei 253 mμ am glaubhaftesten einem α,ß-ungesättigten Cycloaliphatischen Keton zuordnen.
Diese Vermutungen erfahren eine weitere Bestätigung durch eine Vielzahl von Vergleichsspektren, bei denen jeweils die von Sterinen, wie Cholesterin, und Terpenen, wie Abietinol, die grösste Ähnlichkeit mit den Absorptionskurven des Trinervitermes-Sekrets zeigten.

Auch chemisch lässt sich diese Verwandtschaft des Sekrets mit den Steroiden oder Terpenen nachweisen. Die Farbreaktionen auf Harze sprechen fast in genau dergleichen Weise an. Bei der Salkowski-Reaktion (3) tritt zuerst eine tief rötlich-braune Färbung auf, die nach einigem Stehen nach orange übergeht. Die Liebermann-Burchard-Reaktion (4) gibt eine Rosafärbung, die im Verlauf einer Stunde in eine helles Violett übergeht. Mit Benzoylperoxyd und conc. Schwefelsäure (6) entsteht eine tief-

rote Färbung, während mit Acetylchlorid und $ZnCl_2$ eine madeirarote Färbung eintritt, die im UV-Licht eine orange Fluoreszenz zeigt.
Beim Halphen-Hicks-Test (5), als Tüpfelprobe auf Filterpapier ausgeführt, tritt ein hellroter Fleck auf.
Nachdem nun eine grobe Klassifizierung des Sekrets erreicht war, prüften wir es noch papierchromatographisch auf seine Einheitlichkeit. Auf phenylcellosolve-imprägniertem Papier im System n-Heptan/Phenylcellosolve (7) trennt sich das Sekret in 6 deutlich wahrnehmbare Flecken auf. Da wir aber mit einem unspezifischen Reagens wie $SbCl_3$ (8) besprühten, ist es nicht sicher, ob alle Substanzen erfasst worden sind. Zum gleichen Ergebnis, nur schneller und bequemer, kamen wir durch die Dünnschichtchromatographie. Auf einer Kieselgelplatte, mit Chloroform entwickelt, erhielten wir wieder 6 Flecken aus dem Trinervitermes-Sekret.
Damit ist gezeigt, dass das Sekret aus mindestens 6 verschiedenen Substanzen besteht, die auf Grund spektroskopischer und chemischer Befunde zu den Cycloaliphaten zu rechnen sind.

23. Die Trennung.

Die Trennung gelang durch Dünnschichtchromatographie mit einer Aluminiumoxyd-G-Schicht, auf der die Substanzen wesentlich weiter auseinanderliefen und vorallem viel stärker fluoreszierten als auf Kieselgel. Wir teilten zunächst einmal die gesamte Platte in Streifen

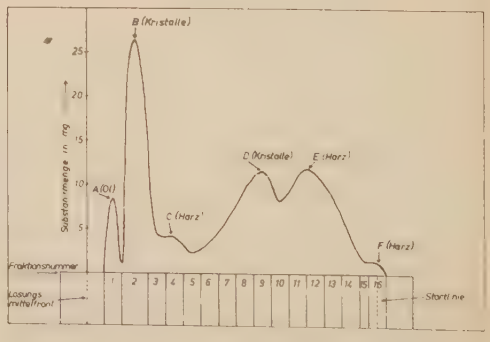


Abb.3. Substanzverteilung des auf einer Aluminiumoxyd-G-Schicht mit Chloroform getrennten Trinervitermes-Sekrets.

von je 1 cm ein, diese eluierten wir und trugen die erhaltene Substanzmenge in Abhängigkeit von der Fraktionsnummer auf. Das ergab die in Abb. 3 dargestellte Trennkurve.
Ein Öl, zwei kristalline und drei harzige Fraktionen waren das Ergebnis der Trennung. Die Substanzpeaks stimmen sowohl mit den zuvor beobachteten Fluoreszenzmaxima als auch mit den bei der Dünnschichtchromatographie erhaltenen Flecken, die wir mit $SbCl_3$ oder $SnCl_4$ sichtbar machten, überein.

Zur weiteren Reinigung chromatographierten wir die erhaltenen Substanzen nochmals, wobei wir uns jetzt zur Lokalisierung der Fluoreszenzmaxima bedienten.

In Tabelle 1 ist das Ergebnis der Trennung mit den Ausbeuten dargestellt.

Tabelle 1. Ausbeuten und Eigenschaften der 6 Trinervitermes-Substanzen.

Bezeichnung	Ausbeute in mg	Form	Fp.	max in mμ	Ausbeute (in %) bezogen auf Gesamtsekret
A	16	ölig	-	2o6	1o,8
B	52	Kristalle	125,5-127	2o7	35,1
C	7	harzig	-	2o6, 235	4,7
D	33	Kristalle	64-68 u.138	2o8	22,3
E	35	harzig	-	2o7,254	23,6
F	5	harzig	-	2o8,252	3,8

Am sinnfälligsten wird der Erfolg der Trennung aber an den in Abb. 4 gezeigten UV-Absorptionskurven. Jetzt tritt die im Spektrum des Gesamtsekrets nur schwach ausgebildete, fast nur als Inflexion vorhandene Bande bei 253 mμ in den Substanzen E und F mit hoher Extinktion auf. Die Lage des Maximums bei 253 mμ kam durch die Überlagerung der beiden Maxima bei 252 mμ, für die Substanz F, und 254 mμ, für die Substanz E zustande. Vollkommen unbemerkt war das zweite Maximum der Fraktion C bei 235 mμ ge-

blieben. Auch die kurzwellige Absorption liegt nicht so einheitlich bei 2o7 mμ, sondern differiert zwischen 2o6 und 2o8 mμ.

Die gleiche Erscheinung können wir bei den IR-Spektren der 6 Trinervitermes-Substanzen feststellen. Auch hier treten Banden hervor, die nur angedeutet waren, und andere verschwinden dafür.

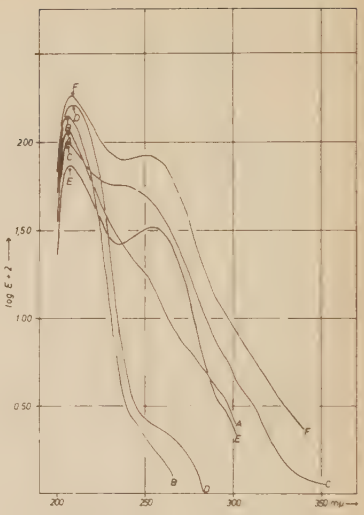


Abb.4. UV-Absorptionsspektren der 6 Trinervitermes-Substanzen in Äthanol.

4. Besprechung der sechs Trinervitermes-Substanzen.

41. Substanz A.

Diese Substanz bildet ein gelbliches Öl mit einem charakteristischen Geruch, der an ätherische Öle erinnert. Im Gesamtsekret findet man 1o,8 % dieser Substanz. Sie dient dort als Lösungsmittel für die anderen kristallinen oder harzigen Anteile. Nach dem Massenspektrum hat sie ein Molekulargewicht von 288.

411. IR-Spektrum der Substanz A.

Im IR-Spektrum der Substanz A, Abbildung 5, tauchen gegenüber demjenigen des Rohsekrets neue Banden bei 16o3 K (6,24 µ), 1499 K (6,68 µ), 752 K (13,27 µ) und 691 K (14,48 µ) auf, die zunächst am besten durch die Anwesenheit eines monosubstituierten aroma-

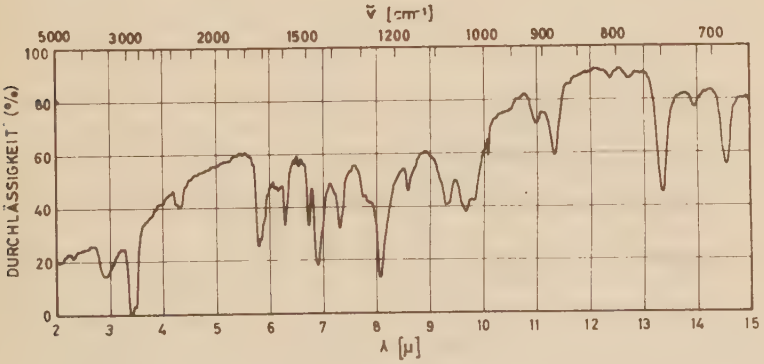


Abb. 5. IR-Spektrum der öligen Substanz A in KBr. Mikropressling 1,5 mm ø.

tischen Systems zu erklären wären, obwohl man im Bereich der aromatischen =CH-Valenzschwingungen nicht das übliche Triplett bei 3o3o K, 3o67 K und 3o9o K, sondern nur eine ganz schwache einzelne Bande bei 3o67 (3,26 µ) beobachtet. Diese liegt an der Flanke der sehr viel stärkeren CH_2- und CH_3- Hauptbanden unter

3ooo K, durch welche ein Hinweis auf einen grossen aliphatischen oder auch cycloaliphatischen Anteil im Molekül gegeben ist.
Als weitere ganz typische Vertreter aliphatischer Banden findet man bei 1458 K (6,86 μ) die $-CH_2$-Deformationsschwingung und, an dieser Bande als Schulter ausgebildet, die asymmetrische $C-CH_3$-Deformation. Die zugehörige symmetrische $C-CH_3$-Deformationsschwingung liegt beim zu erwartenden Wert von 1376 K. Sie zeigt eine schwache Aufspaltung bei 1385 K, wodurch zu erkennen ist, dass an verschiedenen Stellen des Moleküls Methylgruppen stehen.

Der aliphatische Teil des Moleküls muss auch noch ungesättigt sein. Er muss mindestens eine endständige Doppelbindung enthalten, deren CH_2-Waggingschwingungen bei 917 K (1o,9o μ) und 888 K (11,27 μ) auftreten; die dazugehörige -C=C-Valenzschwingung finden wir bei 1637 K (6,11 μ).

Die intensive Bande bei 1244 K (8,o4 μ) könnte von der C-O-Valenzschwingung eines Acetats stammen. Doch müsste dann die Bande bei 1739 K (5,75 μ) intensiver ausgebildet sein, damit man sie der -C=O-Valenzschwingung eines Acetats zuordnen könnte. Aus diesem Grund schreibt man die erste Bande besser der =C-O-Valenzschwingung eines aromatischen Äthers zu, zumal die Anwesenheit eines Acetats auch durch das Ergebnis des später noch zu besprechenden Massenspektrums der Substanz A, siehe 412, unwahrscheinlich gemacht wird. Ein Propionat oder ein höherer Ester kommt ebenfalls nicht in Frage, da deren -C-O-Valenzschwingungen Anlass zu einer starken Bande zwischen 115o und 12oo K geben.

Demnach müsste also die Substanz A ein Phenoläther mit einem ziemlich grossen aliphatischen Anteil sein. Ihr Spektrum müsste mit dem des Anibls weitgehend übereinstimmen, Abweichungen dürften nur durch die zusätzlichen funktionellen Gruppen im aliphatischen Rest von A auftreten.
In der Tabelle 2 sind die Banden der beiden Spektren zum besseren Vergleich einander gegenübergestellt und man erkennt daraus, dass ab 16oo K wirklich eine ganz gute Übereinstimmung in der Bandenlage gegeben ist. Im kurzwelligen Bereich allerdings tritt ein wesentlicher Unterschied in der Lage der =CH-Valenzschwingungen hervor. Anisol absorbiert bei 3o3o K, die Substanz A dagegen bei 3o67 K, was mehr einer =CH-Valenzschwingung in einer aliphati-

Tabelle 2. Gegenüberstellung der Banden des Anisolspektrums und des Spektrums der Substanz A.

Substanz A Lage der Banden in K	Anisol Lage der Banden in K	Zuordnung
3484	-	OH-Valenzschwingung
3o67	-	=CH-Valenzschwingung
-	3o3o	=CH-Valenzschwingung
296o - 2865	-	-CH-,-CH_2- u.-CH_3-Valenzschwingungen
1739	-	-C=O-Valenzschwingung
1637	-	-C=C-Valenzschwingung, aliphatisch
16o3	16oo	-C=C-Valenzschwingungen des
1499	1499	aromatischen Ringes
1458	-	-CH_2-Deformationsschwingung
1376	-	symm.C-CH_3-Deformationsschwingung
1244	1247	-C-O-Valenzschwingung von Phenyl-äthern
1172	1172	aromatische Monosubstitution
1o4o	1o38	
1o25	-	-C-O-Valenzschwingung
917	-	=CH_2-Waggingschwingungen
888	-	
752	753	-CH-Waggingschwingungen 5 benach-
691	69o	barter Ringwasserstoffatome

schen oder cycloaliphatischen Verbindung entspricht.
Es wäre aber immer noch denkbar, dass die aromatische =CH-Valenzschwingung der Substanz A durch die direkt benachbarten, sehr intensiven aliphatischen -CH-Valenzschwingungen verdeckt würde, doch spricht das UV-Spektrum der Substanz A, Kurve A in Abbildung 4, am meisten gegen die Anwesenheit eines aromatischen Systems in dieser Verbindung. Ausser dem Maximum bei 2o6 mμ findet man nur noch eine leichte Inflexion der Kurve bei ca.25o mμ, während bei einer anisolähnlichen Verbindung ein Maximum zwischen 27o und 28o mμ auftreten müsste. Damit ist aber der aromatische Charakter von A in Frage gestellt und es bleibt zu diskutieren, ob nicht die bisher der aromatischen Monosubstitution zugeschriebenen Banden besser einer cycloaliphatischen Verbindung mit einer oder mehreren verzweigten Seitenketten zuzuordnen sind.

412. Massenspektrum der Substanz A.

Eine Unterstützung findet diese Auffassung durch das Massenspektrum der Substanz A, Abbildung 6, in dem die Massen unter m/e 1oo in relativ hoher Intensität auftreten, ganz im Gegensatz zum Spektrum der Substanz B, Abbildung 8, bei der wir es mit einer tricyclischen Verbindung zu tun haben. Das legt den Schluss nahe, dass das untersuchte Molekül stark verzweigt ist und dementsprechend leicht in Bruchstücke niederer Massenzahl zerfällt.

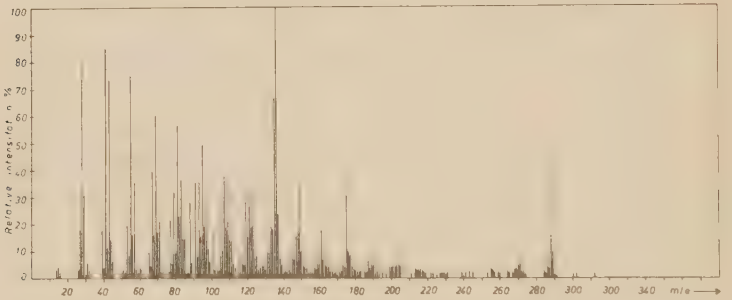


Abb.6. Massenspektrum der Substanz A aus dem Trinervitermes-Sekret.

Die aus dem IR-Spektrum vorhergesagte Anwesenheit von Methylgruppen lässt sich durch das Massenspektrum bestätigen. So entsteht durch Verlust einer CH_3-Gruppe (Masse 15) das Bruchstück mit der Masse 273, aus dem noch eine OH-Gruppe zusammen mit einem Proton der Nachbarschaft als Wasser austritt und das Fragment 255 liefert.
Das Molekül A (Masse 288) kann aber auch zuerst Wasser abspalten, was aus dem Bruchstück der Masse 27o ersichtlich ist, und dann erst aus diesem Fragment eine Methylgruppe verlieren, wodurch wiederum das schon bekannte Ion mit der Masse 255 erhalten wird.

Ausser der Methylgruppe scheint aber noch eine Isoprenyl-Seitenkette C_5H_9 im Molekül vorhanden zu sein, womit die hohe Intensität der Masse 69 erklärt wäre. Die ebenfalls sehr intensiv auftretenden Massen 55 und 41 gehören zu C_4H_7- bzw. C_3H_5-Ionen, die aus der Isoprenyl-Gruppe entstehen können.

Der intensivste Peak des Spektrums liegt bei m/e 136, an der gleichen Stelle also, wo man in den Spektren von B, Abbildung 8, und D, Abbildung 17, das häufigste Bruchstück findet. Es ist daher naheliegend, auch in der Substanz A einen cycloaliphatischen Anteil anzunehmen. Dagegen findet man keinen Hinweis auf eine Acetoxygruppe, das Spektrum von A unterscheidet sich vollkommen von dem der Substanz E, Abbildung 28. Damit ist auch durch die Massenspektrometrie die Anwesenheit eines Essigsäure-Esters unwahrscheinlich geworden.

Die Intensität des sog. Isotopen-Peaks bei 289, der seine Entstehung dem natürlichen Gehalt der Substanz an ^{13}C verdankt, beträgt 22,5 % des Molekülpeaks. Wenn man dabei berücksichtigt, dass in der Natur etwa 1,1 % aller C-Atome die Masse 13 besitzen, so kann man daraus für die Substanz A einen Gehalt von etwa 2o Kohlenstoffatomen berechnen.

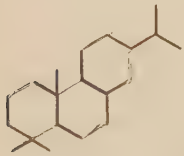
Fasst man die IR- und massenspektrometrischen Befunde zusammen, so enthält die Substanz A sehr wahrscheinlich einen Cyclohexanring, an dem sich neben mindestens einer Methylgruppe noch eine Isoprenyl-Seitenkette befindet, etwa in der Art der bekannten monocyclischen Sesquiterpene. In welcher Gruppierung dagegen der zweifellos im Molekül vorhandene Sauerstoff vorkommt, lässt sich nicht eindeutig entscheiden. Das Auftreten eines Bruchstückes 18 Masseneinheiten unter dem Molekülpeak kann man nur durch Wasserabspaltung aus dem Molekül A erklären, womit eine sekundäre OH-Gruppe wahrscheinlich wird. Die -C-O-Valenzschwingung bei 1o25 K im IR-Spektrum unterstützt diese Auffassung.
Dagegen lässt sich die aus den Banden bei 16o3 K, 1499 K, 1244 K, 752 K und 691 K angenommene Anwesenheit einer Phenoläthergruppe in A nicht bestätigen. Besonders das Fehlen einer entsprechenden Bande im UV-Spektrum lässt eine solche Gruppierung unwahrscheinlich erscheinen.

42. Substanz B.

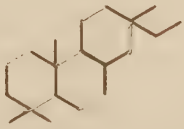
Dies ist die erste kristalline Substanz, die wir aus dem Trinervitermes-Sekret erhielten, zu dessen Gesamtmasse sie mit 35 % den Hauptanteil liefert.

Nach zweimaliger Dünnschichtchromatographie lag der Schmelzbereich der vorläufig noch leicht gelblichen Substanz zwischen 107 und 120°C, erreichte jedoch nach dem Zonenreinigen einen Schmelzpunkt von 125,5 - 127°C. Dünnschichtchromatographisch war dieser Anteil nun vollkommen einheitlich und fand daher für eine Mikroanalyse sowie ein Massenspektrum Verwendung. Der Molekül-Peak im Massenspektrum liegt bei m/e 288.
Unter Berücksichtigung dieses Molekulargewichtes passen die Werte der CH-Analyse am besten auf die Formel $C_{20}H_{32}O$. Danach gehört die Substanz B zu den cyclischen Diterpenalkoholen, womit wir unsere, aufgrund der IR- und UV-Spektren in den Voruntersuchungen aufgestellte Vermutung bestätigt finden.

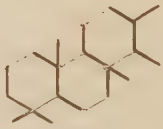
Nach der "Isopren-Regel" von Ruzicka (9) gibt es prinzipiell drei Möglichkeiten für den Bau des Kohlenstoff-Grundskeletts.



I



II



III

I liegt der bekannten Abietinsäure zugrunde und enthält eine irreguläre rolge von vier Isopreneinheiten.

Das Kohlenstoffgerüst II besteht aus vier regulär, Kopf - Schwanz - verknüpften Isopreneinheiten und liegt der Dextropimarsäure zugrunde. Ebenso regulär ist III gebaut, nur unterscheidet es sich von II durch den etwas verschiedenen Einbau der beiden letzten Isopreneinheiten in das Kohlenstoffgerüst. III ist das Grundgerüst von Manool (9), bei dem jedoch der Ring C nicht geknüpft ist, sondern mit dem Schwanz der dritten Einheit eine verzweigte Seitenkette bildet.

421. IR - Spektrum der Substanz B.

Das IR-Spektrum der Substanz B, Abb. 7, zeigt besser ausgeprägte Banden als das Rohsekret.

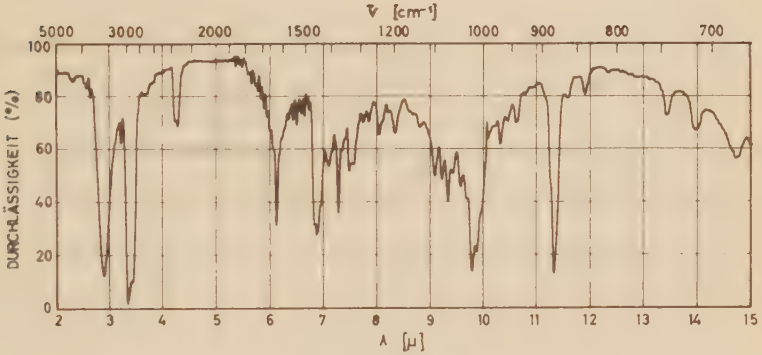


Abb. 7. IR-Absorptionsspektrum der kristallinen Substanz B, fest in KBr. Mikropressling 1,5 mm ø.

Als erste Bande im Spektrum finden wir bei 3390 K (2,95 μ) die stark ausgebildete OH - Valenzschwingung. Ihre verhältnismässig langwellige Lage deutet auf eine intermolekulare Verknüpfung durch Wasserstoffbrücken hin. Das aufgrund der Analyse vorhandene eine Sauerstoffatom ist demnach also Teil einer alkoholischen OH-Gruppe, was durch die langwellige Absorption der -C-O-Valenzschwingung bei 1024 K (9,77 μ) Bestätigung findet.
Der ungesättigte Charakter der Substanz zeigt sich in der wenig intensiven Bande bei 3067 K (3,26 μ). Die -C=C- Valenzschwingung bei 1634 K (6,12 μ) ist, gegenüber ihrer Normallage bei etwa 1650 K, etwas nach längeren Wellen hin verschoben, was auf ein substituierten Olefin hinweist, da eine Konjugation von Doppelbindungen aufgrund des UV-Spektrums der Substanz B (Kurve 2 in Abbildung 4) ausgeschlossen ist. Die Intensität der Bande lässt darüberhinaus auf eine asymmetrische Substitution der Doppelbindung schliessen, etwa vom Typus $RHC=CH_2$ oder $R_1R_2C=CH_2$. Für den zweiten Typ sprechen die Absorptionsbanden bei 1634 K (6,12 μ) und 885 K (11,30 μ) (10).

Daneben finden wir noch Hinweise auf die Anwesenheit einer zweiten, mehr symmetrisch gebauten Doppelbindung. Bei 1439 K (6,95 μ) liegt, wenn auch nur als Schulter an der intensiven CH_2-Bande ausgebildet, die Deformationsschwingung einer CH_2-Gruppe, die unmittelbar einer Doppelbindung benachbart steht und in einen Ring eingebaut ist (11), wie man das von vielen Steroidtypen her kennt.
Schliesslich tritt noch bei 847 K (11,85 μ) die =CH-Waggingschwingung eines trisubstituierten Olefins auf. Ruzicka (12) benutzte diese Bande, um zwischen Sesquiterpenen mit der $R_1R_2C{=}CHR_3$-Gruppierung und dem vollkommen substituierten Typ zu unterscheiden und auch Hirschmann (13) fand diese Bande in einer Vielzahl von Steroiden.
Mit Hilfe dieser spektroskopischen Aussagen sind die beiden aufgrund der Summenformel zu erwartenden Doppelbindungen im Kohlenstoffgerüst festgelegt. Das Grundskelett II scheidet aus, weil in der Seitenkette der Dextropimarsäure und ihrer Derivate eine Vinylgruppe steht.

Die zweite, die trisubstituierte ringständige Doppelbindung liesse sich zunächst einmal in jedes der drei zur Auswahl stehenden Grundskelette einfügen. Berücksichtigt man aber noch die Aussage des UV-Absorptionsspektrums von B, Kurve 2 in Abb. 4, mit seinem Maximum bei 2o7 mμ, welches nach Bladon, Henbest und Wood (2) von einer Doppelbindung zwischen C-7 und C-8 im Ring B solcher hydroaromatischer Systeme herrührt, so verbleibt nur noch die Struktur I als mögliches Kohlenstoffgerüst der kristallinen Trinervitermes-Substanz, da in III keine Doppelbindung an die geforderte Stelle passt.

Von den im IR-Spektrum deutbaren Banden sind nun nur noch die vom Kohlenstoffgerüst verursachten Schwingungen zu besprechen.
Die CH_2 - Deformationsschwingung bei 1466 K (6,82 μ) und die asymmetrische $C\text{-}CH_3$ - Deformationsschwingung bei 1458 K (6,86 μ) liegen genau in den nach Literaturangaben zu erwartenden Bereichen, jedoch so nahe beisammen, dass die CH_2 - Deformationsschwingung nur als Schulter an der $C\text{-}CH_3$ - Deformation in Erscheinung tritt. Schön ausgebildet finden wir dagegen bei 1339 K (7,47 μ), genau an der erwarteten Stelle, die CH-Deformations-

schwingung.
Besonders wertvoll für die Zuordnung der CH_3- Gruppe ist die symmetrische C-CH_3 - Deformationsschwingung bei 1376 K (7,27 μ). Sie ist durch Überlagerungen viel weniger gestört als die analoge asymmetrische Schwingung, da in diesem Bereich kaum andere Absorptionen zu erwarten sind. Treten aber doch Schultern an dieser Bande auf, wie im Spektrum der Substanz B, so sind mehrere CH_3 - Gruppen an verschiedenen Stellen des Moleküls gebunden. Neben ihrer ausgezeichneten Lagekonstanz hat die Bande den Vorteil, dass ihre Intensität direkt proportional der Anzahl der im Molekül vorhandenen Methylgruppen ist. Diese Tatsache kann man nun für eine quantitative Bestimmung der Methylgruppenanzahl im Molekül B heranziehen. Die -CH_3-, CH_2- und -CH- Valenzschwingungen im Bereich zwischen 2941 K und 2849 K weisen nämlich die gleiche direkte Proportionalität ihrer Intensitäten zu der im Molekül anwesenden Zahl der CH_3-, CH_2- und CH-Gruppen auf. Betrachtet man den Flächeninhalt einer Absorptionsbande als ein Mass für ihre Intensität, so muss man einfach aus der Fläche der CH_3-Deformationsschwingung und der Fläche der gesamten CH - Valenzschwingungen den prozentualen Anteil an Methylgruppen errechnen können.

Wir haben diese Rechnung am Beispiel des Abietinols durchgeführt und einen Methylgruppengehalt von 21,5 % gefunden. Der theoretische Wert beträgt 2o,8 %.

Daraufhin führten wir die Rechnung auch für die Substanz B durch und erhielten einen Methylgruppengehalt von 19,35 %, d.h. aber, dass die Substanz B mit ihrem Molekulargewicht von 288 vier Methylgruppen enthalten muss. Der theoretische Wert wäre, ebenso wie beim Abietinol, 2o,8 % gewesen. Bei Anwesenheit von 3 Methylgruppen liegt der Wert bei 15,6 %.

Nun findet man im Spektrum nur noch zwei Banden, die mit einiger Sicherheit zu deuten sind, bei 1o15 K (9,85 μ) und eine der Banden zwischen 95o und 1ooo K. Hierbei handelt es sich um die Gerüstschwingungen des 6-Ringes, die man bei allen hydroaromatischen Verbindungen in dieser Gegend gefunden hat. Wahrscheinlich ist die Bande bei 975 K (1o,28 μ) wegen ihrer grösseren Intensität

als die zweite der genannten Schwingungen anzusehen.

Nach den besprochenen Daten gehört also die Substanz B dem Diterpentyp I an. Zwischen C-7 und C-8 des Ringes B findet sich die eine, in der Seitenkette endständig die zweite Doppelbindung, wodurch die im Skelett I mögliche Anzahl von Methylgruppen um eine, also auf vier verringert wird. Nachdem wir aber aus der Intensität der $C-CH_3$- Deformationsschwingung die Anwesenheit von vier Methylgruppen im Molekül der Substanz B errechnet haben, muss die OH - Gruppe im Gegensatz zum verwandten Abietinol sekundären Charakter haben. Vermutlich steht sie am C-3 im Ring A, wodurch eine dem Lanosterin ähnliche Anordnung entsteht. Diese Ansicht wird noch dadurch gestützt, dass gerade auch beim Lanosterin, welches in der Konfiguration seiner Ringe A und B mit der Abietinsäure übereinstimmt (9), die -C-O - Valenzschwingung der OH-Gruppe so verhältnismässig langwellig bei 1025 K (9,76 μ) liegt.

422. Massenspektrum der Substanz B.

Wie schon erwähnt liegt der Molekülpeak bei 288 m/e, woraus sich die Masse 288 als Molekulargewicht für die Substanz B ergibt. Die oberhalb von 288 liegenden Peaks sind sogenannte Isotopen - Peaks, verursacht durch den ^{13}C -, den ^{2}H und dem ^{17}O - Gehalt der Substanz. Die natürliche Konzentration von ^{13}C beträgt ungefähr 1,1 %, d.h. eine organische Verbindung mit n Kohlenstoffatomen enthält demzufolge n· 1,1/100 ^{13}C - Atome.
Wenden wir diese Überlegungen auf die Substanz B an, die nach der Analyse 20 C Atome, 32 H Atome und 1 O Atom enthält, so müsste die Intensität des Peaks bei 289 m/e etwa 22,0 % des Molekülpeaks ausmachen. Tatsächlich finden wir für das Intensitätsverhältnis 24,0 %.

Die Terpene und auch die Steroide geben Massenspektren, aus denen man leicht das Molekulargewicht und die Grösse der Seitenkette bestimmen kann, doch ist eine Interpretation der Ringspaltstücke schwierig, weil dafür immer zwei Bindungen gelöst werden müssen und dabei Umlagerungen auftreten können. Bei Friedland et al. (14) findet man Deutungen der Bruchstücke einfacher Steroide, hauptsächlich von Kohlenwasserstoffen, Alkoholen und Estern.

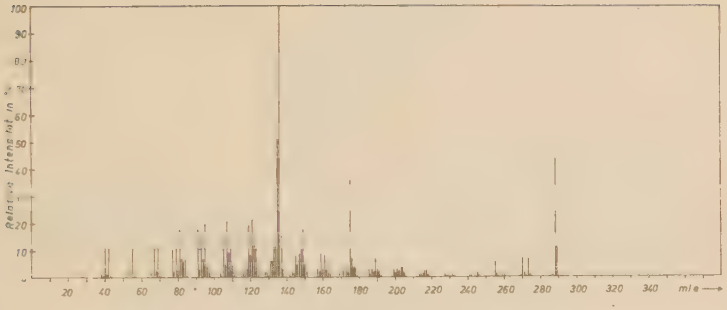
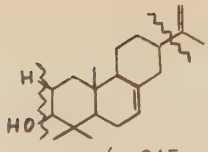


Abb. 8. Massenspektrum der Substanz B aus dem Trinervitermes-Sekret.

Leicht erklären lassen sich danach die Bruchstücke mit den Massen 273 und 27o. Sie sind entstanden durch Abspaltung von CH_3 (MG 15) bezw. HOH (MG 18) aus dem Molekül B . Verliert das Bruchstück 273 ein H_2O (18) oder das Bruchstück 27o eine Methylgruppe (15), so erhält man aus beiden ein Fragment mit der Masse 255, wodurch dieser relativ intensive Peak eine Erklärung gefunden hat. Der Verlust von Wasser bestätigt wiederum die schon vorher postulierte Anwesenheit einer OH - Gruppierung, doch muss sich jetzt die Möglichkeit ergeben zwischen einer primären und einer sekundären OH - Gruppe aufgrund der im Massenspektrum gefundenen Bruchstücke zu unterscheiden. Im Falle eines primären Alkohols müsste einmal das Bruchstück $-CH_2OH$ mit der Masse 31 zu finden sein. Diese Masse aber ist nur mit so geringer Intensität vorhanden, dass man daraus mit Sicherheit auf das Fehlen des genannten Bruchstücks schliessen kann. Dagegen findet man die Masse 28 und 29. Ihnen entsprechen die Bruchstücke $\rangle C=\overset{+}{O}-H$ (Masse 29) und $\rangle C=O$ (Masse 28), die von einem sekundären Alkohol stammen können.

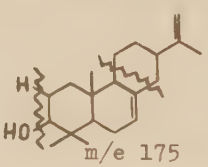
Ein noch relativ einfacher Zerfall (a) führt zur Masse 245, die durch Abspaltung der Seitenkette entsteht.



(a)

m/e 245
m/e (227)

Einen tieferen Einbruch in das Molekül stellt der Zerfall (b)dar, bei dem der Ring C zusammen mit der Seitenkette und Wasser vom restlichen cyclischen System abgetrennt wird, sodass das Bruch-

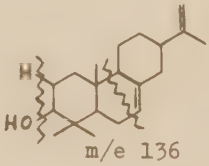


(b)

m/e 175

stück $C_{13}H_{19}$ (Masse 175) entsteht. Auch das Produkt, das daraus durch Abspaltung einer Methylgruppe entsteht (Masse 159), findet man noch in einer relativ hohen Konzentration.

Besonders bevorzugt scheint die Sprengung des Ringes B zu sein (c), wodurch das Fragment $C_{10}H_{16}$ entsteht.

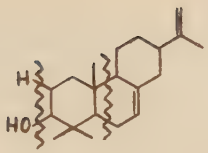


(c)

m/e 136

$C_{10}H_{16}$ kann unter Abgabe einer Methylgruppe weiter zerfallen zu C_9H_{13}, dessen Masse 121 auch noch mit beachtlicher Intensität im Spektrum erscheint.

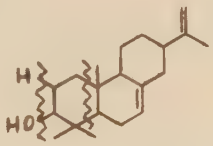
Im folgenden Zerfall (d) bricht der Ring A zusammen mit der angulären Methylgruppe aus dem Molekül heraus. Die am Ring A noch erhaltene OH - Gruppe wird in bekannter Weise mit einem benachbarten Proton als Wasser abgespalten und der Rest C_9H_{13} mit der Masse 121 entsteht. Unter weiterem Verlust einer Methylgruppe kann er in das Spaltstück C_8H_{11} mit der Masse 107 übergehen.



(d)

m/e 121

Schliesslich sei noch der Fall (e) erwähnt, bei dem nur der Ring A, ohne die anguläre Methylgruppe aus dem Molekül herausbricht. Es entsteht unter gleichzeitigem Wasserverlust das Fragment C_6H_9 mit der Masse 81.



(e)

m/e 81

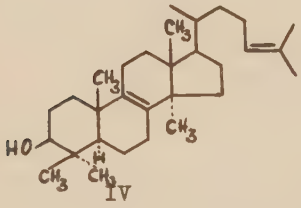
Dieses kann noch eine Methylengruppe abspalten und das Bruchstück C_5H_7 mit der Masse 67 liefern, oder es verliert das tertiäre Kohlenstoffatom (C-4) zusammen mit den geminalen Methylgruppen, sodass das Ion C_3H_4 (Masse 4o) entsteht.

Die Interpretation des Massenspektrums liefert einen weiteren Beweis für die Anwesenheit einer sekundären OH - Gruppe in der Substanz B und im übrigen spricht es für die schon aufgrund des IR-Spektrums vorgeschlagene Struktur.

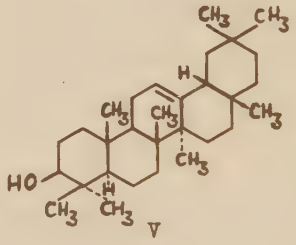
423. Untersuchung der Substanz B mit chemischen Methoden.

Bei den physikalischen Untersuchungsmethoden blieb zunächst einmal der Charakter der in der Substanz B vorhandenen OH - Gruppe etwas unklar. Wohl ergibt das Massenspektrum eine sekundäre OH-Gruppierung, die auch durch Überlegungen, die aus dem IR-Spektrum folgen, wahrscheinlicher wird, doch ist damit noch nichts über die Stellung dieser Gruppe im Molekül ausgesagt. Die ziemlich

langwellige Lage der -C-O - Valenzschwingung bei 1025 K kann einmal verursacht sein durch eine Hydroxylgruppe an C-3 in axialer Stellung (15), während die gleiche Gruppe in äquatorialer Stellung bei 1044 K absorbiert. Andererseits kann aber die Lage der -C-O - Valenzschwingung durch die unmittelbare Nachbarschaft der geminalen CH_3- Gruppen beeinflusst sein, wie das bei Lanosterin (IV) oder beim ß-Amyrin (V), welches in seinen Ringen A und B die gleiche sterische Anordnung wie ersteres aufweist, der Fall ist. Trotz seiner äquatorialen Hydroxylgruppe am C-3 findet



IV

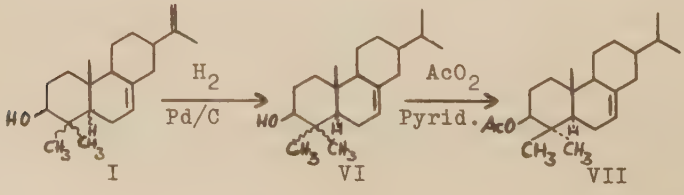


V

man bei beiden Verbindungen, wie auch bei vielen gleichgebauten Substanzen, die -C-O- Valenzschwingung im Bereich zwischen 1020 und 1030 K.

Es gilt nun zu entscheiden, ob unsere Substanz B, die mit ihrer Bande bei 1025 K in beide Bereiche passt, am C-3 a- oder ß- konfiguriert ist. Das einfachste Verfahren hierzu ist die Acetylierung der OH - Gruppe und anschliessendes Studium des IR-Spektrums des erhaltenen Acetats.

Um Störungen der gesuchten Banden durch Umlagerungen der vorhandenen Doppelbindungen zu vermeiden, hydrierten wir die Substanz B (I) katalytisch und erhielten unter Verbrauch von nur einem Mol H_2 die Verbindung (VI), welche wir dann zu (VII) acetylierten (a).



(a)

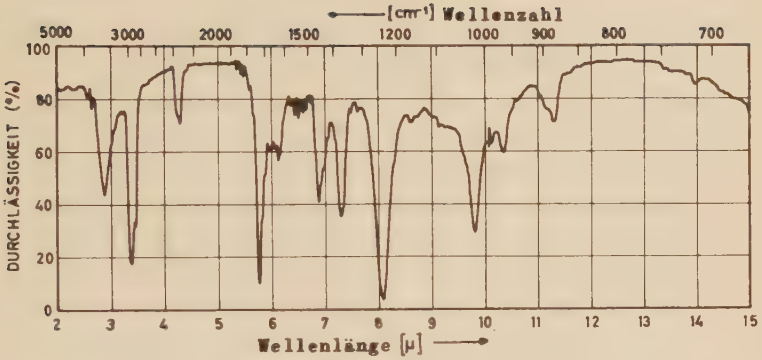


Abb. 9. IR-Absorptions-Spektrum der Substanz VII, fest in KBr. Mikropressling 1,5 mm ø. 1742 K C=O - Valenzschwingung von Acetaten; 1244 K -C-O- Valenzschwingung äquatorialer C-3 Acetate.

Im IR-Spektrum des Dihydro-B-Acetats (VII), Abb. 9, erkennt man die C=O- Valenzschwingung bei 1742 K (5,74 μ). Wichtiger ist die -C-O- Valenzschwingung bei 1244 K (8,04 μ). Nach Jones et al. (16) zeigen Steroid-Acetate, die am C-3 eine äquatoriale Acetoxy-Gruppe tragen, im Bereich von 1236 - 1247 K eine starke Bande, während alle Acetate mit einer axialen Acetoxy-Gruppe am C-3 zwischen 1200 und 1250 K eine Bande mit Triplettstruktur aufweisen. Damit trägt aber die Substanz B eine äquatoriale OH - Gruppe am C-3 und sie gehört ebenso wie das Lanosterin und das ß-Amyrin der A/B-trans-Reihe mit einem 5 α- Wasserstoffatom an. Die langwellige Absorption der -C-O- Valenzschwingung der sekundären OH - Gruppe im Spektrum der reinen Substanz B, Abb. 7, stammt also nicht von einer axialen An-

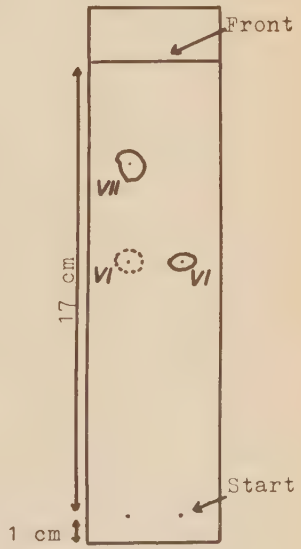


Abb. 10. Dünnschichtchromatogramm des B-Acetats. Schicht: Kieselgel G, Fliessmittel: $CHCl_3$.

ordnung dieses Strukturelements im Ring A, sondern durch den Einfluss der geminalen Methylgruppen in der unmittelbaren Nachbarschaft der Alkoholgruppe kam die Verschiebung der Bande um 19 K nach längeren Wellenlängen hin zustande.

Die katalytische Hydrierung der Substanz B (I) zu (VI) erlaubt uns einen weiteren Einblick in den Bau des Moleküls. Die nach den bisherigen Methoden ermittelten zwei Doppelbindungen in der Substanz B lassen sich auch auf chemischen Wege nachweisen. Für die blose Anwesenheit von Doppelbindungen spricht die Reaktion mit Tetranitromethan.

Eine wesentlich spezifischere Aussage erlaubt die Reaktion mit SeO_2(17). Sie fällt nur positiv aus bei Δ^7- und Δ^8- Stenolen der 5α- Reihe. Unsere Substanz liefert schon nach etwa 5 Minuten eine positive Reaktion mit Selendioxyd, wodurch die Lage ihrer ringständigen Doppelbindung auf die Positionen zwischen C-7 und C-8 oder zwischen C-8 und C-9 eingeschränkt ist. Nach der katalytischen Hydrierung der Substanz B mit Pd/C in Äthanol erhält man unter Verbrauch von nur einem Mol Wasserstoff Dihydro-B (VI), eine farblose harzige Substanz. Charakteristisch an ihrem IR-Spektrum ist, dass alle Banden, die zur endständigen Methylengruppe gehören, verschwunden sind, so die schwache =C-H - Valenzschwingung bei 3067 K (3,26 μ), die -C=C- Valenzschwingung bei 1634 K (6,12 μ) hat wesentlich an Intensität verloren und liegt jetzt bei 1639 K (6,1o μ) und die sehr starke Bande der -CH- Waggingschwingung bei 885 K (11,3o μ). Dafür aber hat die Intensität der symmetrischen C-CH_3 - Deformationsschwingung bei 1376 K (7,27 μ) zugenommen, da durch die Hydrierung, wenn unsere Annahme einer endständigen Methylengruppe richtig war, eine weitere Methylgruppe im Molekül entstanden sein muss.

Analog der Rechnung bei der reinen Substanz B verwendeten wir auch bei ihrem Dihydroprodukt (VI) die Intensität der symmetrischen -CH_3 - Schwingung als ein direktes Mass für die Anzahl der im Molekül enthaltenen Methylgruppen und erhielten einen Methylgehalt von 27,9o %. Theoretisch ergibt sich aus der Formel VI ein Methylgehalt von 26,oo %.

Der Verlauf der Hydrierung, bei der nur ein Mol Wasserstoff aufgenommen wird, bestätigt die durch die Reaktion mit Selendioxyd gefundene Lage der ringständigen Doppelbindung. Nur die 7,8- oder

die 8,9- Doppelbindung der A/B-trans-Reihe lässt sich katalytisch nicht hydrieren. Selbst gegen Wasserstoff mit Pt und Eisessig sind diese beiden Doppelbindungstypen vollkommen inert. Die gleiche Beobachtung konnten wir an unserer Substanz B machen, denn auch bei der Hydrierung mit Pt als Katalysator und Eisessig als Lösungsmittel nahm sie nur 1 Mol H_2 auf und das isolierte Reaktionsprodukt VI zeigte sowohl eine positive Tetranitromethan- als auch eine positive Selendioxydreaktion. Also war die ringständige Doppelbindung erhalten und an ihrer alten Stelle geblieben, was auch durch die -C=C- Valenzschwingung bei 1639 K (6,1o u) im Spektrum der Substanz VI und ihres Acetats VII, Abb.9, bestätigt wird.

Die Acetylierung von VI bringt auf chemischen Wege die Bestätigung der Anwesenheit einer OH - Gruppe im Molekül B. Daneben erlaubt sie die Anzahl der im Molekül vorhandenen OH - Gruppen festzustellen.

Wegen der verschieden grossen Veresterungsgeschwindigkeiten der Hydroxylgruppen an den verschiedenen Stellen des polycyclischen Systems ist zu erwarten, dass bei der Acetylierung nach einer gewissen Zeit nicht alle vorhandenen OH - Gruppen quantitativ mit dem Essigsäureanhydrid reagiert haben, sondern es wird ein Gemisch aus den verschiedenen Acetylierungsstufen vorliegen. Aus einer einheitlichen Substanz mit zwei acetylierbaren OH-Gruppen wird man also nach einer bestimmten Zeit ein Mono- und ein Diacetat erhalten, sodass man chromatographisch aus der Zahl der Acetylierungsprodukte die Zahl der ursprünglich im Molekül vorhandenen OH-Gruppen bestimmen kann.

Im Dünnschichtchromatogramm des Dihydro-B-Acetats VII, Abb. lo, erkennt man ausser einer geringen Menge noch nicht umgesetzter Ausgangssubstanz VI

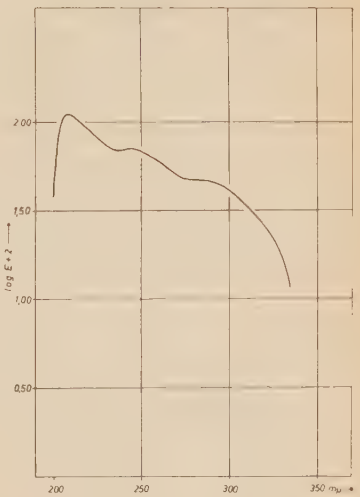


Abb. 11. UV-Absorptionsspektrum der Oxydationsprodukte von VI in Äthanol.

nur das Acetat VII und keine weitere Substanz mehr d.h. aber, dass in B und dessen Hydrierungsprodukt VI nur eine OH - Gruppe vorhanden ist.

Der Nachweis, dass die OH - Gruppe sekundär ist, wurde durch eine milde Oxydation geführt, wobei man nicht nur den Charakter der OH - Gruppe erfährt, sondern auch über ihre Umgebung Auskunft erhält. Um irgendwelche Störungen durch die endständige Doppelbindung auszuschalten, oxydierten wir Dihydro-B (VI) nach Djerassi mit CrO_3 in Aceton (18), Reaktion b, und erhielten zunächst einmal ein Gemisch von Oxydationsprodukten mit einer für 6-Ringketone typischen C=O Valenzschwingung bei 1710 K, dessen UV-Absorptionsspektrum in der Abbildung 11 gezeigt ist.

Die 280 mμ Bande zeigt an, dass bei der Oxydation ein Keton entstanden ist, die 244 mμ Bande lässt auf ein α, ß-ungesättigtes C-6 Keton schliessen mit einer Doppelbindung nach C-7 nach C-8 (Substanz IX). Nach Woodward (19) errechnet sich für diesen Typ des ungesättigten Ketons eine Absorption bei 244 mμ, was mit dem gefundenen Wert vollkommen übereinstimmt.

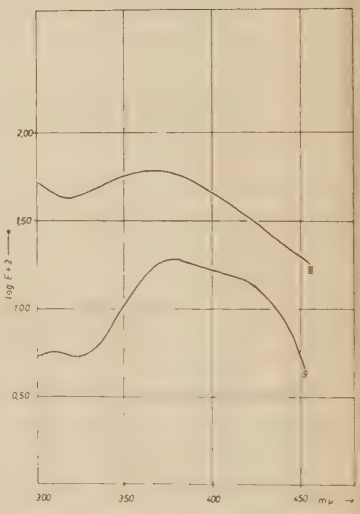
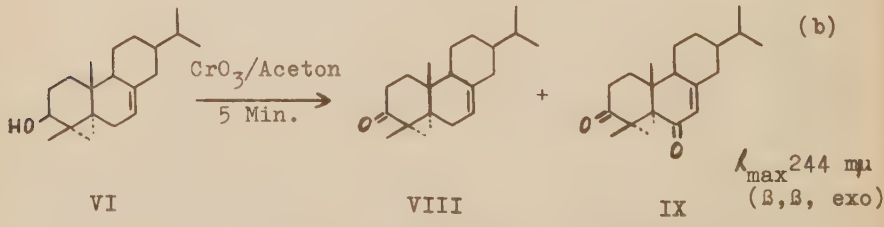


Abb. 12. UV-Absorptionsspektrum der 2,4 DNPs von VIII und IX in Äthanol.



VI VIII IX

Hauptprodukt Nebenprodukt

Bei einer $\Delta^{8,9}$ würde der oxydative Angriff am C-7 erfolgen und das daraus resultierende $\Delta^{8,9}$-7-Keton besitzt ein UV-Maximum bei 254 mμ. Darüberhinaus müsste in diesem Fall als Nebenprodukt noch das $\Delta^{8,9}$-7,11-Diketon entstehen, welches bei 275 mμ absorbiert. Diese Banden sind im Spektrum des Dihydro-B- Oxydationsproduktes nicht enthalten und damit scheidet die Möglichkeit einer $\Delta^{8,9}$ aus.

Zur näheren Charakterisierung und zur leichteren Trennung der zunächst nur im Gemisch erhaltenen Oxydationsprodukte führten wir diese in ihre 2,4-Dinitrophenylhydrazone über und trennten diese zuerst an einer Kieselgelsäule und dann zur Nachreinigung auf einer Kieselgel-Dünnschichtplatte. Wir erhielten dabei zwei gelbe Substanzen, deren langwellige UV-Maxima in der Abbildung 12 dargestellt sind. Nach Reich und Mitarbeiter (2o) absorbieren 3-Ketosteroide im Bereich zwischen 367 und 369 mμ, während Bis-DNP-Derivate von Steroiden mit zwei Ketogruppen, von denen eine einer Doppelbindung benachbart steht, nur eine einzige Bande bei etwa 38o mμ besitzen.
Beste Übereinstimmung mit diesen Daten zeigen unsere aus den Oxydationsprodukten erhaltenen 2,4-Dinitrophenylhydrazone. Die Kurve 8 in der Abbildung 12 stammt vom mengenmässig überwiegenden 2,4-DNP, dessen Maximum bei 368 mμ liegt und dessen Schmelzpunkt wir bei 142° fanden. Es handelt sich hierbei also um das 2,4-DNP-Derivat des 3-Ketons VIII aus der Reaktion b.

Das zweite 2,4-DNP kommt in wesentlich geringerer Menge vor, sodass wir keinen Schmelzpunkt davon erhalten konnten, wohl aber reichte es zu einem UV-Spektrum, Kurve 9 in Abbildung 12. Das Maximum dieser Substanz liegt bei 379 mμ und ist damit eines der von Reich (2o) beschreibenen Bisphenylhydrazone aus Diketonen mit einer normalen und einer α,ß-ungesättigten Ketofunktion. Dieses 2,4-Dinitrophenylhydrazon ist also das Derivat der Substanz IX aus der Reaktion b.

Um nun noch einen Einblick in das Kohlenstoffgerüst der Substanz B zu erhalten und um die tatsächliche Anwesenheit eines hydrierten Phenanthrengerüstes zu beweisen, dehydrierten wir sie mit Selen. Die Reaktionsprodukte trennten wir durch Chromatographie an einer Säule von basischem Aluminiumoxyd (7), wobei wir das Eluat in 25 Fraktionen teilten und diese anschliessend UV-spektrosko-

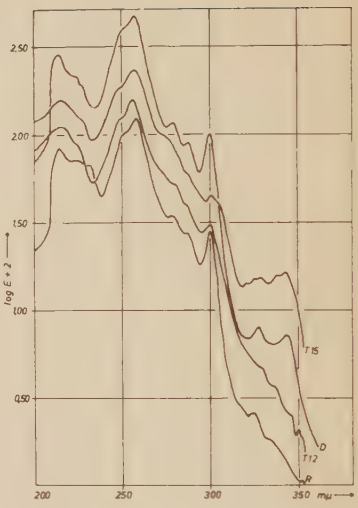
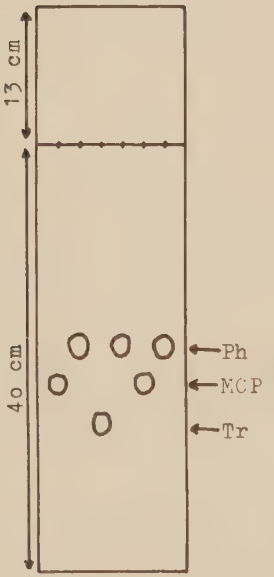


Abb.13. UV-Absorptionsspektren von Selendehydrierungsprodukten:
R = Reten aus Abietinsäure
T12 = Frakt.12 aus Subst. B
D = Selendehydrierungsprodukt aus Dextropimarsre
T15 = Frakt.15 aus Subst. B
alle gemessen in n-Hexan.



Ph = Phenanthren
MCP = Methylcyclopentenophenanthren (Diels'scher Kohlenwasserstoff)
Tr = Substanz B, Frakt. 11 - 13 der Dehydrierungsprodukte.

Abb.14. Papierchromatogramm der Kohlenwasserstoffe.
SS 2043 b/Phenylcellosolve;
Fliessmittel: n-Heptan,
absteigend.

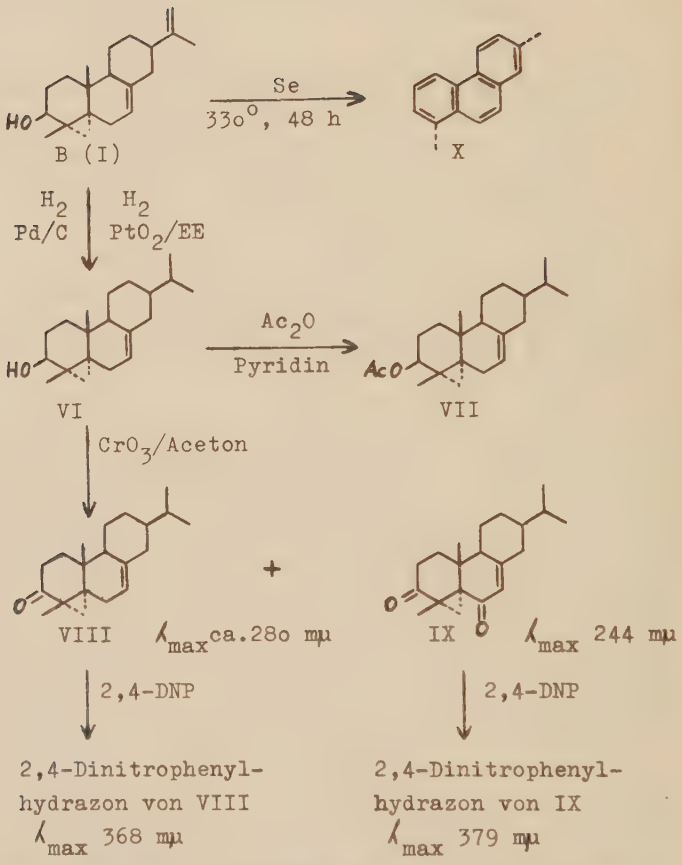
pisch untersuchten. In den niederen Fraktionen fanden wir zwei Produkte, die aufgrund ihrer UV-Spektren als di- oder trialkylierte Naphthaline oder als eine Mischung aus beiden aufzufassen sind.
Kurz danach folgen drei Fraktionen, deren UV-Spektren untereinander übereinstimmen und von einem 1,7-disubstituierten Phenanthren stammen. Die mittlere der drei Fraktionen gibt die am besten ausgeprägte Kurve, T 12 in Abbildung 13, und ist mit dem Spektrum des Retens, Kurve R in Abbildung 13, des 1-Methyl-7-isopropyl-phenanthrens also, nahezu vollkommen identisch. Lediglich im Maximum bei 256 mμ weicht das B-Dehydrierungsprodukt um 2 mμ von der Absorptionskurve des Retens (258 mμ) etwas ab, während die anderen Differenzen alle innerhalb der erlaubten Fehlergrenze von einem mμ liegen.

Einige Fraktionen weiter tritt noch einmal eine Substanz auf, die ein wohlausgeprägtes Phenanthrenspektrum liefert, Kurve T 15 in Abbildung 13. Gegenüber der vorhergehenden Substanz ist ihr Spektrum nur geringfügig verändert. Das Hauptmaximum liegt bei 258 mμ, also um 2 mμ nach längeren Wellen verschoben, und der langwellige Teil des Spektrums hat eine Änderung erfahren, indem hier gut ausgeprägte, wenn auch wenig intensive Banden bei 328 und 342 mμ erscheinen. Diese Kurve T 15 stimmt vollkommen überein mit dem Spektrum einer Substanz, die wir bei der Selendehydrierung von Dextropimarsäure (II) erhalten haben. Bemerkenswert ist, dass bei der Dehydrierung der Dextropimarsäure das 1-Methyl-7-äthyl-phenanthren entsteht.

Nach der Papierchromatographie der Dehydrierungsprodukte, Abbildung 14, steht fest, dass weder reines Phenanthren noch Methylcyclopentenophenanthren, der Diels'sche Kohlenwasserstoff also, unter den Dehydrierungsprodukten vertreten ist.

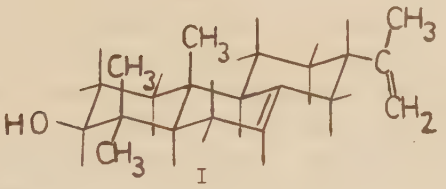
Mit der Selendehydrierung ist die Reihe der einfachen, auch mit geringen Substanzmengen durchführbaren chemischen Reaktionen, die wir zur Strukturaufklärung der Substanz B anstellten, beendet.
Im Schema 1 sind noch einmal diese Reaktionen zusammengefasst.

Schema 1



Die Substanz B aus dem Kopfdrüsensekret der Trinervitermes-Soldaten ist also ein Diterpenalkohol von der Summenformel $C_{2o}H_{32}O$ und dem Molekulargewicht 288. Sie trägt am C-3 des Ringes A eine äquatoriale OH-Gruppe, die zu geminalen Methylgruppen am C-4 benachbart steht. Der Wasserstoff am C-5 hat α-Konfiguration. Damit gehört B zur A/B - trans-Reihe ebenso wie das Lanosterin und das ß-Amyrin, mit deren beiden ersten Ringen es in der Konfiguration übereinstimmt. Im Ring B findet man zwischen C-7 und C-8 die eine, in der Seitenkette in einer endständigen Methylengruppe, die andere Doppelbindung des Moleküls. Demnach

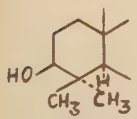
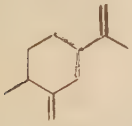
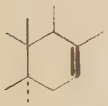
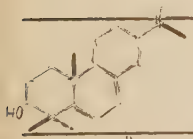
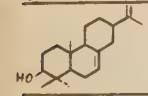
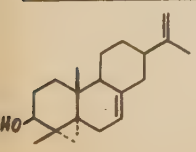
kommt der Substanz B die nachstehende Struktur I zu.



I

In der Tabelle 3 findet man die Nachweisreaktionen für die einzelnen Strukturelemente der Substanz B zusammengestellt.

Tabelle 3. Strukturelemente der Substanz B und deren Nachweis.

Strukturelement	nachgewiesen durch:
	1.) Acetylierung: -C-O-Valenzschwingung bei 1244 K eingipfelig, also äquatoriale OH-Gruppe am C-3 Chromatographie: 1 Acetatfleck = eine OH-Gruppe 2.) Oxydation: gibt Keton VIII: Maximum des 2,4-DNP-Derivats bei 368 mμ. 3.) Übereinstimmung der -C-O-Valenzschwingung von B mit denen von Lanosterin und ß-Amyrin.
	1.) IR-Banden bei 1635 K (6,12 μ) u. 885 K (11,3o μ) 2.) Katalytische Hydrierung: 1 Mol H_2-Verbrauch 3.) Verschwinden der 885 K - Bande und Zunahme der sym.-C-CH_3-Deformationsschwingung von 19,4 auf 27,9 % nach der Hydrierung.
	1.) UV-Spektrum λ_{max} 2o7 mμ. 2.) SeO_2-Test: positiv 3.) Katalytisch nicht hydrierbar: typisch für Δ^7 in der A/B-trans-Reihe. Nach der Hydrierung SeO_2-Test immer noch positiv. 4.) Oxydation: gibt Keton IX, λ_{max} = 244 mμ; Maximum des 2,4-DNP-Derivats bei 379 mμ.
	1.) Asym.C-CH_3 -Deformationsschw.bei 1458 K (6,86μ) sym. C-CH_3 -Deformationsschw.bei 1376 K (7,27μ) 2.) Zahl der CH_3-Gruppen durch quantitative Auswertung der CH-Valenz- u.CH_3-Deformationsschwingung.
	1.) Selendehydrierung liefert 1,7-disubst.Phenanthrene, kein Chrysenderivat, daher Fehlen einer C_4- Seitenkette und Fehlen d. Steroidgerüstes.
	1.) MG 288 aus Massenspektrum 2.) $C_{2o}H_{32}O$ aus CH-Analyse.

43. Substanz C.

Die Substanz ist ein farbloses Harz, welches trotz mehrmaliger Reinigung durch Dünnschichtschromatographie nicht zur Kristallisation neigte. Sie kommt im Trinervitermes-Sekret nur zu 4,7 % vor. Ihr Molekulargewicht beträgt 3oo, entsprechend dem Massenpeak m/e 3oo im Massenspektrum. Wegen der sehr geringen Substanzmengen, die uns nach der Reinigung zur Verfügung standen, konnte das Massenspektrum nicht quantitativ ausgewertet werden. Es liefert nur das Molekulargewicht der Substanz, für die Intensitäten der Fragmente liegen keine Werte vor.

Das UV-Spektrum der Substanz C, Kurve C in Abbildung 4, zeigt ein ausgeprägtes Maximum bei 2o6 mμ und eine breite Schulter zwischen 235 und 245 mμ.

431. IR-Spektrum der Substanz C.

Das in der Abbildung 15 gezeigte IR-Spektrum der Substanz C ist nahezu identisch mit dem IR-Spektrum der Substanz A, Abbildung 5. In der Lage der Banden ist die Übereinstimmung beider Spektren vollkommen, lediglich in der Intensität einiger weniger Banden

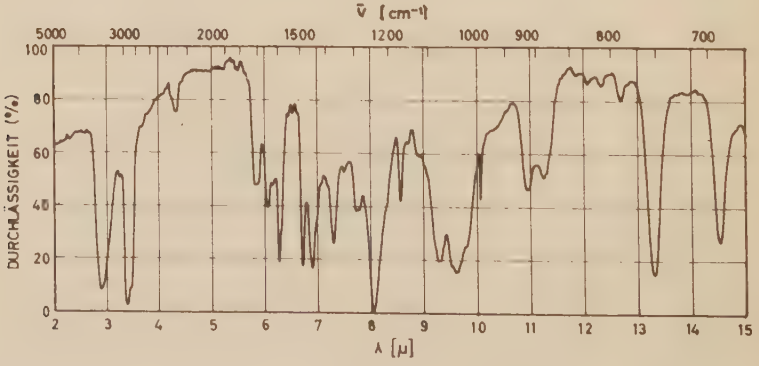


Abb. 15. IR-Absorptionsspektrum der harzigen Substanz C, fest in KBr. Mikropressling 1,5 mm ø.

treten wahrnehmbare Abweichungen auf. Im ganzen zeigt das Spektrum der Substanz C schärfere und ausgeprägtere Banden. Man kommt zu der Auffassung, dass beide Substanzen homologe Verbindungen sein müssen, wie man der Tabelle 4 entnimmt.

Tabelle 4. Gegenüberstellung der IR-Banden von Substanz A und C.

Substanz A Lage der Banden in K	Substanz C Lage der Banden in K	Zuordnung
3484	3484	OH-Valenzschwingung
3o67	3o67	=CH-Valenzschwingung, aromatisch
296o - 2865	2967 - 2899	CH-, CH_2- u. CH_3-Valenzschwingungen
1739	1736	-C=O-Valenzschwingung
1655 1637	1658 1637	-C=C-Valenz, aliphatisch
16o3 1499	16o3 1637	-C=C-Valenzschwingung des aromatischen Ringes
1458	1456	$-CH_2$-Deformation
1376	1376	symmetrische C-CH_3 Deformation
1244	1245	-C-O-Valenz von Phenyläthern
1o79	1o8o	$-CH_2$-O-Valenz in gemischten Äthern
1172 1o4o	1171 1o42	aromatische Monosubstitution
1o25	1o25	-C-O-Valenz (Alkohol)
917 888	918 Intensität 892 umgekehrt	$=CH_2$-Wagging
752 691	753 691	-CH-Waggingschwingungen fünf benachbarter Ring-H-Atome

Die Substanz C ist aufgrund des Massenspektrums um ein Kohlenstoffatom reicher als die Substanz A. Die Anzahl der Wasserstoff- und der Sauerstoffatome bleibt gleich. Diese Bedingungen sind dann am besten und am einfachsten zu erfüllen, wenn man annimmt, dass das neu hinzukommende Kohlenstoffatom Bestandteil einer asymmetrisch disubstituierten Doppelbindung ($>C=CH_2$) des aliphatischen Molekülteils ist.
Im Übrigen gelten auch hier die bei der Substanz A angestellten Überlegungen.

44. Substanz D.

Die Substanz D ist der zweite kristalline Anteil, den wir aus dem Trinervitermes-Sekret isolieren konnten. Sie kommt zu 22,3 % im Gesamtsekret vor. Wir reinigten sie durch mehrmalige Dünnschichtchromatographie, bis das erhaltene Produkt sich sowohl papier- als auch dünnschichtchromatographisch einheitlich verhielt. Die farblos kristalline Verbindung zeigt dann einen ersten Schmelzbereich von 64 - 68°, bei 8o° folgt ein Umwandlungspunkt und bei 138° liegt schliesslich der Schmelzpunkt dieser zweiten Modifikation.
Die Massenspektrometrie gab einen Molekül-Peak bei m/e 3o4, d.h. das Molekulargewicht von D beträgt 3o4 und liegt damit um 16 Einheiten über dem der Substanz B, der ersten kristallinen Komponente des Trinervitermes-Sekrets.

Die Analyse von D lieferte 75,81 % C und 1o,o3 % H. Der Sauerstoffgehalt berechnet sich daraus zu 14,16 %. Bei einem Molekulargewicht von 3o4 stimmt mit dieser Analyse die Formel $C_{2o}H_{32}O_2$ noch am besten überein.

Danach gehört die Substanz D ebenfalls zu den cyclischen Diterpenalkoholen, höchst wahrscheinlich handelt es sich um ein Oxydationsprodukt der Substanz B, worauf schon durch das Molekulargewicht ein Hinweis gegeben ist.

Das UV-Absorptionsspektrum der Substanz D, Kurve D in Abbildung 4, zeigt keine wesentliche Veränderung gegenüber dem Spektrum der Substanz B.

441. IR-Spektrum der Substanz D.

Die Ähnlichkeit der Substanz D mit B wird auch durch das in der Abbildung 16 wiedergegebene IR-Spektrum deutlich. Alle wesentlichen Banden findet man an der vom Spektrum der Substanz B her bekannten Stelle, auch ihre Form und Intensität ist gleich. Lediglich im Bereich zwischen 9 und 1o μ beobachtet man neu hinzugekommene Banden.

Die =CH - Valenzschwingung bei 3o67 K (3,26 μ) gibt einen Hinweis auf den ungesättigten Charakter von D. Eine weitere Bestätigung liefern die -C=C- Valenzschwingung bei 1634 K (6,12 μ)

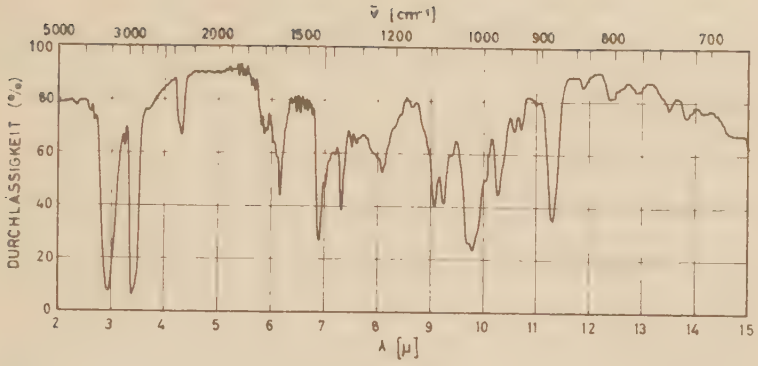


Abb.16. IR-Absorptionsspektrum der kristallinen Substanz D, fest in KBr. Mikropressling 1,5 mm ø .

und die CH-Waggingschwingung bei 889 K (11,26 μ). Aus den beiden zuletzt genannten Banden kann man eindeutig die Art der vorhandenen Doppelbindung bestimmen, denn die intensive Waggingschwingung bei 11,26 μ ist charakteristisch für die Wasserstoffatome an einer endständigen Doppelbindung vom Typus $R_1R_2C{=}CH_2$.

Gleichgeblieben sind auch die übrigen von Kohlenstoffgerüst abhängigen Banden. Zwischen 2941 K und 2849 K liegen die CH_3-, CH_2- und CH- Valenzschwingungen, die jedoch zu wenig aufgelöst sind, um für eine genauere Analyse des Kohlenstoffgerüstes herangezogen zu werden.

Die CH_2- Deformation bei 1464 K (6,83 μ) und die asymmetrische $C{-}CH_3$- Deformation bei 1456 K (6,86 μ) liegen an der erwarteten Stelle, doch nur sehr wenig aufgelöst. Die 1464 K - Bande tritt nur als eine Schulter an der wesentlich stärker ausgeprägten $C{-}CH_3$- Deformationsschwingung auf. Gut erkennbar, wenn auch wenig intensiv ist die =CH- Deformationsschwingung bei 134o K (7,46 μ). Sie liegt damit genau an der nach Literaturangaben zu erwartenden Stelle.

Die wertvollste Bande in diesem Gebiet ist aber die symmetrische $C{-}CH_3$-Deformationsschwingung bei 1376 K (7,27 μ). Wie schon bei der Substanz B haben wir auch hier aus ihrer Intensität und der Intensität der Banden zwischen 2941 und 2849 K den Gehalt der

Substanz an Methylgruppen berechnet. Liegt der Verbindung D das Gerüst von B zugrunde, ohne dass durch die Oxydation eine Veränderung der Methylgruppen stattgefunden hat, so errechnet sich dafür ein Methylgehalt von 19,75 %, der gefundene Wert beträgt 2o,8o %. Nach diesem Ergebnis ist sicher, dass auch D vier Methylgruppen enthält.

In den bisher besprochenen Teilen des Spektrums herrschte vollkommene Übereinstimmung mit den entsprechenden Daten der Substanz B. Im Folgenden sollen die Abweichungen erwähnt werden. Die Spektren beider Substanzen unterscheiden sich nur in den OH- und C-O- Schwingungen.

Die OH-Valenzschwingung findet man als eine sehr intensive und wohlausgeprägte Bande bei 339o K (2,95 μ), an der gleichen Stelle wie bei B auch, doch ist die Intensität gegenüber dem Spektrum der Substanz B wesentlich erhöht. Daraus und aus dem Fehlen einer -C=O - Valenzschwingung geht ganz klar hervor, dass das neu hinzugekommene Sauerstoffatom in einer OH-Gruppe stehen muss. Über die Stellung dieser zweiten OH-Gruppe im Molekül geben die -C-O- Valenzschwingungen im Gebiet zwischen 9 und 1o μ Auskunft. Zunächst einmal findet man die relativ langwellige -C-O- Valenzschwingung bei 1o27 K (9,64 μ) wieder. Sie gehört zur OH-Gruppe am C-3 des Ringes A, der eine dem Lanosterin und dem β-Amyrin vergleichbare Konfiguration hat. Daneben aber tritt in diesem Spektrum noch eine aufgespaltene Bande mittlerer Intensität bei 11o7 und 1o87 K auf, bei der es sich offensichtlich um die -C-O- Valenzschwingung der neuen OH-Gruppe handelt. Ihre Stellung im Molekül konnten wir nur durch Vergleichsspektren ermitteln. Alle uns zugänglichen Vergleichssubstanzen, die ausser der OH-Gruppe am C-3 noch eine weitere in ihrem Ringsystem enthielten, so das Gitoxigenin am C-14 und C-16, das Uzarigenin am C-14, die Cholsäure am C-7 und C-12 sowie die Desoxycholsäure am C-12, zeigten neben der schon bekannten -C-O- Valenzschwingung im Bereich zwischen 1ooo und 1o5o K noch eine weitere kurzwellig verschobene Bande zwischen 1o6o und 11oo K. Damit liegt aber der Schluss nahe, dass auch in D eine OH-Gruppe am C-12 oder C-14 vorhanden ist und Anlass gibt zu den -C-O- Valenzschwingungen, die nicht mit denen aus der Substanz B übereinstimmen.

442. Massenspektrum der Substanz D.

Im Massenspektrum der Substanz D, Abbildung 17, liegt der Molekular-Peak, wie schon erwähnt bei m/e 3o4, was entsprechend ein Molekulargewicht von 3o4 bedeutet. Die Intensität des bei 3o5 liegenden Isotopenpeaks beträgt 21,1 % des Molekül-Peaks. Das ist eine ganz gute Übereinstimmung mit der Theorie, denn eine aus 2o Kohlenstoffatomen aufgebaute Substanz lässt einen Isotopen-Peak von 22,o % erwarten, wie bereits früher erörtert wurde. Der auffallendste Unterschied zum Massenspektrum der Substanz B ist die grosse Intensität der Bruchstücke mit kleiner Massenzahl, vorallem im Bereich um m/e 4o. Eine plausible Erklärung für diese Erscheinung ist wohl die enge Nachbarschaft der neuen OH-Gruppe zu der C_3-Seitenkette. Durch den induktiven Effekt der OH-Gruppe ist die Stabilität des Ringes C verringert, sodass das Auftreten kleiner Fragmentionen begünstigt ist. In der Substanz B fehlt dieser Einfluss im Ring C vollkommen und damit treten auch die Bruchstücke mit kleinen Massen nicht so stark hervor. Die Zerfallsreaktionen sind aber prinzipiell die gleichen wie bei B. Die Abspaltung von Wasser aus dem Molekül führt zu dem Fragment mit der Masse 286, welches unter Abgabe einer Methylgruppe das Bruchstück der Masse 271 und unter Verlust einer weiteren Methylgruppe die Masse 256 liefert. Die in ihrer Umgebung ziemlich intensive Masse 27o entsteht aus dem Molekül D durch Abspaltung zweier OH-Gruppen (Masse 34).

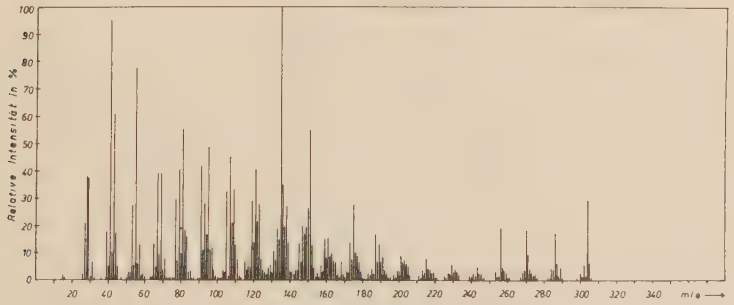
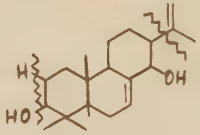


Abb.17. Massenspektrum der Substanz D.

Ein relativ einfacher Zerfall (a) liefert durch Abtrennung der Seitenkette und einer OH-Gruppe das Bruchstück $C_{17}H_{23}O$ (Masse 243) und daraus durch Abspaltung der zweiten OH-Gruppe $C_{17}H_{21}$ (Masse 227).

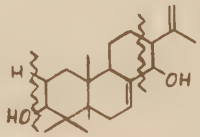
(a)



m/e 243

Alle weiteren Zerfallsreaktionen stellen tiefere Einbrüche in das Molekül dar, wobei in den meisten Fällen zwei Bindungen gelöst werden müssen, sodass zweifach geladene Ionen entstehen, die sich aber sofort durch Umlagerungen oder Eliminierungen zu einfach positiv geladenen Ionen stabilisieren.
So entsteht beim Zerfall (b) unter Abspaltung von C-13 und C-14 mit ihren Substituenten aus dem Ring C ein Fragment $C_{15}H_{23}O$ mit der Masse 219. Dieses verliert auch noch die OH-Gruppe am C-3 zusammen mit einem benachbarten Proton und geht in das Ion $C_{15}H_{21}$ mit der Masse 2o1 über.

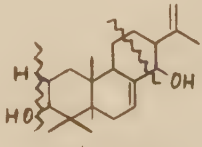
(b)



m/e 2o1

Sehr ähnlich verläuft die Zerfallsreaktion (c), bei der der Ring C zwischen C-11 und C-12 sowie zwischen C-8 und C-14 gespalten wird. Unter gleichzeitigem Verlust der zweiten OH-Gruppe erhält man das Fragment-Ion $C_{14}H_{19}$ mit der Masse 187.

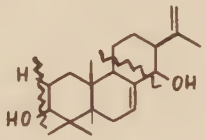
(c)



m/e 187

Bei der Reaktion (d) wird der gesamte Ring C und die OH-Gruppe am C-3 vom Molekül abgetrennt. So entsteht das relativ intensive Ion $C_{13}H_{19}$ (Masse 175), welches unter Abspaltung einer Methylgruppe weiterzerfällt zu $C_{12}H_{15}$ (Masse 159).

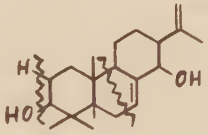
(d)



m/e 175

In der Reaktion (e) tritt Spaltung des Rings B ein. Das dabei entstandene Fragment $C_{10}H_{15}$ (135) scheint sehr stabil und energetisch begünstigt zu sein, denn es liefert den intensivsten Peak des ganzen Spektrums.

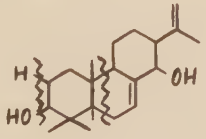
(e)



m/e 135

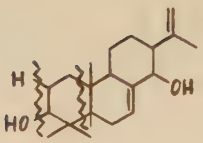
Auch die Zerfallsreaktion (f) führt in den Bereich der mittleren Massen. Durch Wasserabspaltung und Verlust der Ringe B und C entsteht das Fragment C_9H_{13} (121).

(f)



m/e 121

Die letzte der bei den polycyclischen Systemen bevorzugten Spaltungen, die Reaktion (g), führt zu kleinen Fragmentionen. So erhält man durch Eliminierung von Wasser sowie der Ringe B und C zusammen mit der angulären Methylgruppe das Ion C_6H_9 mit der Masse 81, aus dem durch weiteren Zerfall noch die Fragmente C_4H_7 (Masse 55) und C_3H_5 (Masse 41) entstehen können.



(g)

m/e 81

Alle hier angeführten Spaltungsreaktionen stehen im Einklang mit den Befunden der schon früher zitierten Friedland'schen Arbeit über die Massenspektrometrie von Steroiden (14).

Somit haben alle im Massenspektrum auftretenden nennenswerten Bruchstücke ihre Zuordnung gefunden und die für D angenommene Struktur ist wesentlich wahrscheinlicher geworden. Doch sollen nun chemische Methoden zur Klärung der noch offenen Fragen herangezogen werden.

443. Untersuchung der Substanz D mit chemischen Methoden.

Das eleganteste Verfahren, die Orientierung einer OH-Gruppe in einem polycyclischen Ringsystem von der Art der Terpene oder der Sterine festzustellen, ist die Acetylierung dieser fraglichen OH-Gruppe und die anschliessende IR-Spektroskopische Untersuchung des erhaltenen Acetats (16). Auf diese Weise haben wir schon die

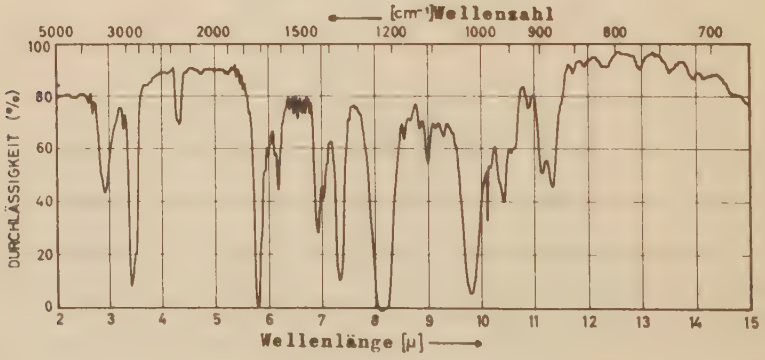
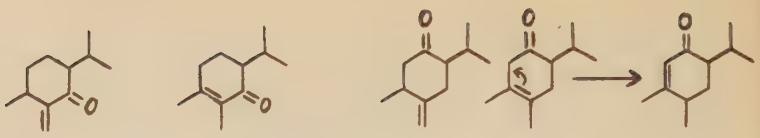


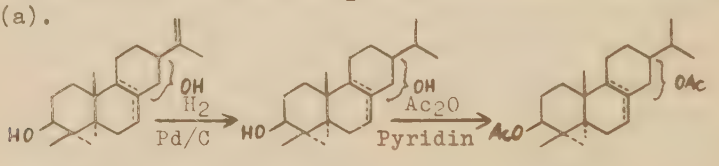
Abb.18. IR-Spektrum des D-Acetats, fest in KBr. Mikropressling 1,5 mm ø. 1742 K C=O- Valenzschwingung von Acetaten; 1241 K -C-O- Valenzschwingung äquatorialer Acetate.

Lage der OH-Gruppe in der Substanz B fixiert und wendeten es auch bei der Substanz D wieder an. Um keine Umlagerungen oder sonstige Veränderungen am Molekül zu bekommen, acetylierten wir die reine unveränderte Substanz D. Das erhaltene D-Acetat liefert das in der Abbildung 18 gezeigte IR-Spektrum, aus dem klar hervorgeht, dass alle im Molekül vorhandenen OH-Gruppen äquatorial orientiert sind, denn nur solche Acetate geben eine eingipfelige -C-O- Valenzschwingung bei 1241 K. Dabei ist es gleichgültig, ob die Acetoxygruppe in Ring A, B oder C sitzt. Dass bei der Acetylierung beide OH-Gruppen des Moleküls reagiert hatten, konnten wir durch Dünnschichtchromatographie des Reaktionsproduktes feststellen. Wir erhielten im Chromatogramm vier Flecken, drei schwächere und einen starken. Einer der schwächeren Flecken konnte als nicht umgesetzte Substanz D indentifiziert werden, die anderen drei entsprachen den zu erwartenden zwei Monoacetaten und dem Diacetat.
Überraschend am IR-Spektrum des D-Acetats, welches in seinem sonstigen Verlauf das typische Bild eines Acetatspektrums zeigt, ist die Aufspaltung der $=CH_2$- Waggingschwingung bei 889 K (11,26 μ). Sie erscheint nun als eine Doppelbande bei 9o4 K (11,o6 μ) und 889 K (11,26 μ). Diese Erscheinung lässt sich nur so deuten, dass durch die Acetylierung die Doppelbindung in der Seitenkette sehr stark beeinflusst wird, sodass die beobachtete Aufspaltung der Bande eintritt. Das kann aber nur dann der Fall sein, wenn die Acetoxygruppe in unmittelbarer Nähe der Seitenkette in das Molekül eingetreten ist, was sowohl am C-12 als auch am C-14 gegeben wäre. Damit haben wir durch das IR-Spektrum der acetylierten Substanz D wohl Aufschluss über die Orientierung der neuen OH-Gruppe bekommen nicht aber über ihre Stellung im Molekül.
Nach den bisherigen Beobachtungen kann die neue OH-Gruppe nur am C-12 oder C-14 stehen. Wenn man diese zur Ketogruppe oxydiert, so müsste die Doppelbindung aus dem Ringsystem mit einer 14-Ketogruppe in Konjugation treten, mit einer 12-Ketogruppe dagegen nicht. Steht jedoch die Doppelbindung in der Substanz D zwischen C-8 und C-9, so kann sie sowohl zu einem 12-Keton als auch zu einem 14-Keton in Konjugation treten, doch müssen sich dann die UV-Spektren der α,β-ungesättigten Ketone deutlich voneinander unterscheiden:



Ber.: λ_{max} 242 mu; λ_{max} 249 mu; λ_{max} ca. 28o mu; λ_{max} 244 mu
α,ß,exo α,ß,ß ß,ß,exo

Gleichzeitig erhalten wir dann durch die Oxydation auch Aufschlussüber die Lage der Doppelbindung im cyclischen Teil des Moleküls. Wir haben sie bisher, anlog zur Doppelbindung in der Substanz B, zwischen C-7 und C-8 angenommen, da auch die Substanz D eine positive Reaktion mit SeO_2 gibt. Doch bedeutet dies noch keine eindeutige Festlegung der Doppelbindung, da auch eine Δ^8 mit SeO_2 positiv reagiert. Die Lage des Maximums im UV-Absorptionsspektrum von D, Kurve D in Abbildung 4, bei 2o8 mμ deutet mehr auf die Doppelbindung zwischen C-8 und C-9 hin (2).
Vor der Oxydation hydrierten wir die Substanz D, um störende Einflüsse der Doppelbindung aus der Seitenkette oder deren Oxydationsprodukte auszuschalten. Die Substanz D nahm bei der Hydrierung mit Pd als Katalysator und Äthanol als Lösungsmittel nur ein Mol Wasserstoff auf. Das Ergebnis änderte sich auch nicht, als wir die Hydrierung mit PtO_2 in Eisessig wiederholten, Reaktion (a).



XIV XV XXI (a)

Versetzt man das Hydrierungsprodukt, ein farbloses Harz, mit Tetranitromethan, so gibt es eine stark positive Reaktion, d.h. in der Substanz XV ist noch eine Doppelbindung enthalten. Soweit stimmt das Ergebnis mit der Hydrierung der Substanz B überein, denn auch dort wurde eine Doppelbindung nicht hydriert. Führt man mit XV die SeO_2-Reaktion aus, so erhält man eine deutliche Gelbfärbung, wodurch die Lage der verbliebenen Doppelbindung auf die Positionen C-7 nach C-8 oder C-8 nach C-9 eingeschränkt ist.

Einen kleinen Anteil der Substanz XV acetylierten wir in der be-

kannten Weise, wobei das vermutliche Dihydro-D-Diacetat XXI entstand.

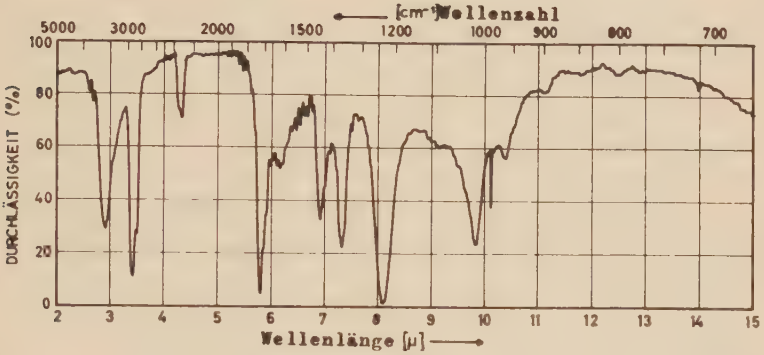
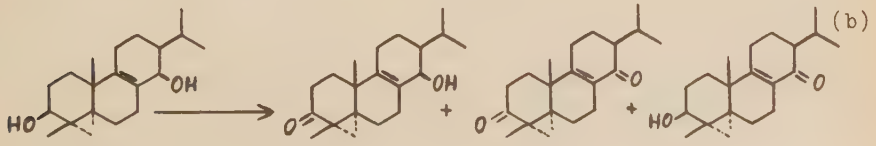


Abb.19. IR-Spektrum von XXI, fest in KBr; Mikropressling 1,5 mm ⌀. 1742 K -C=O - Valenzschwingung in Acetaten, 1242 K -C-O- Valenzschwingung äquatorialer Acetate.

Beachtlich ist die nahezu vollkommene Übereinstimmung des IR-Spektrums dieser Substanz mit dem des Dihydro-B-Acetats, vergleiche Abbildung 9 und 19. Man kann beide Spektren zur Deckung bringen, soweit es die Lage und die Form der Banden betrifft, nur die Acetatbanden des Dihydro-D-Diacetats kommen etwas stärker heraus.

Den Rest der Substanz XV oxydierten wir nach Djerassi (18) mit CrO_3 in Aceton, Reaktion b. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielten wir ein Gemisch von Reaktionsprodukten mit dem UV-Absorptionsspektrum der Abbildung 2o. Einem Maximum bei 2o8 mμ folgt ein zweites bei 249 mμ und schliesslich zwischen 28o und 29o mμ eine breite Inflexion. Die Absorption bei 2o8 mμ gehört



XV λ_{max} 2o8 mμ

XVI λ_{max} ca.28o mμ

XVII λ_{max} 249 mμ

XVIII λ_{max} 249 mμ

wahrscheinlich zu noch nicht oxydierter Substanz XV und ist für uns uninteressant. Die Bande bei 249 mμ stammt aber von einem α,ß-ungesättigten Keton mit der auf Seite 42 gezeigten Struktur. Da gemessener Wert und theoretisch vorausgesagter Wert so schön übereinstimmen, besteht kein Zweifel, dass bei der Oxydation von XV ein ungesättigtes Keton der Struktur XVII mitentstanden ist.

Daraufhin muss aber unsere bisher angenommene Struktur der Substanz D in zwei Punkten revidiert werden. Erstens haben wir im hydroaromatischen Ringsystem keine Δ^7 wie bei der Substanz B, sondern eine Δ^8, worauf wir aus dem UV-Absorptionsspektrum von D, Kurve D in Abbildung 4, schon einen Hinweis erhalten hatten, und zweitens sitzt die neue OH-Gruppe nicht am C-12, sondern äquatorial am C-14. Durch diese Veränderungen werden aber die früher gemachten Aussagen des Massenspektrums in keiner Weise eingeschränkt oder entwertet.

Das Gemisch der Chromsäureoxydationsprodukte setzten wir mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin um und trennten die Hydrazone zuerst an einer Kieselgelsäule, danach auf einer Dünnschicht-

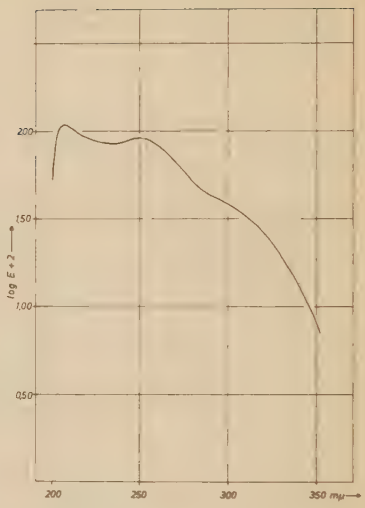


Abb.2o. UV-Absorptionsspektrum der Oxydationsprodukte von XV in Äthanol.

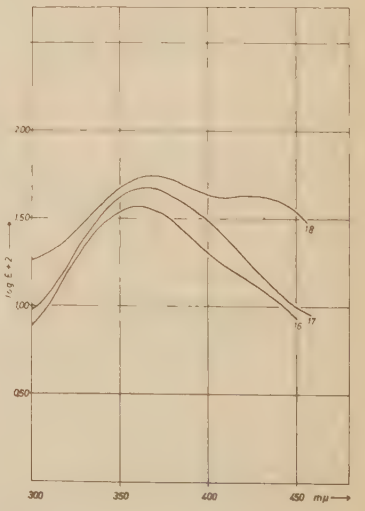


Abb.21. UV-Absorptionsspektrum der 2,4-DNPs von XVI, XVII und XVIII in Äthanol.

Kieselgelplatte. Die UV-Absorptionsspektren der drei erhaltenen 2,4-Dinitrophenylhydrazone sind in der Abbildung 21 wiedergegeben als die Kurven 16, 17 und 18. Ihre Maxima bei 362, 365 und 368 mμ stimmen alle mit den für gesättigte Ketone angegebenen Werten überein (2o), aber es fehlt eine Substanz, welche die Absorption α,ß-ungesättigter Ketone zeigen sollte. Nach dem Spektrum des unbehandelten Gemisches der Oxydationsprodukte, Abbildung 2o, muss aber ein α,ß-ungesättigtes Keton vorliegen. Das Fehlen einer entsprechenden Fraktion bei den 2,4-DNPs kann man nur so erklären, dass die Ketogruppe am C-14 durch die Seitenkette gegen einen Angriff des relativ grossen 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Moleküls abgeschirmt wird, sodass keine Hydrazonbildung eintritt. Solche Effekte sind bei entsprechend konfigurierten Verbindungen in der Steroid- und der nahe verwandten Herzgiftreihe oft beobachtet worden.

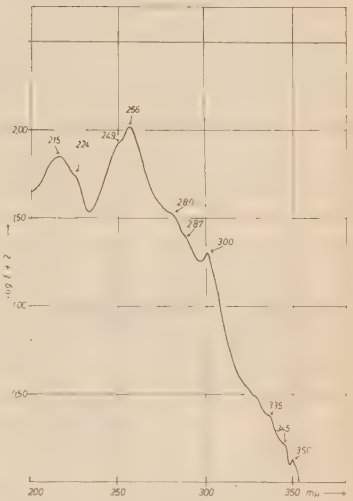


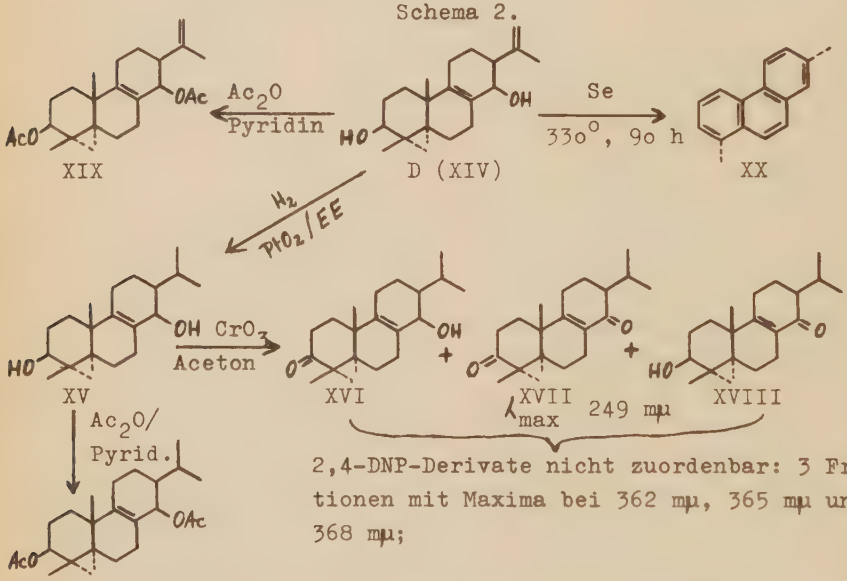
Abb.22. UV-Absorptionsspektrum der Fraktion 13 aus den Se-Dehydrierungsprod. von D in n-Hexan.

Die Reihe unserer chemischen Untersuchungen an der Substanz D beschlossen wir mit einer Selendehydrierung. Wegen des höheren Sauerstoffgehaltes der Substanz D erhöhten wir die Reaktionsdauer auf 9o Stunden und arbeiteten dann die Reaktionsprodukte in der bei der Substanz B beschriebenen Weise auf.
In den niederen Fraktionen fanden wir wieder Naphtalinderivate, während die Fraktion 13 eine Substanz lieferte, deren UV-Absorptionsspektrum in der Abbildung 22 gezeigt ist. Sie stimmt bis in alle Einzelheiten mit dem Spektrum der als T 12 bezeichneten Fraktion 12 der Dehydrierungsprodukte von B überein, Abbildung 13. Aus den gleichen Gründen, die dort besprochen wurden, ist auch die Substanz XX als ein 1,7 disubstituiertes Phenanthren anzusprechen.

In den höheren Fraktionen der D-Dehydrierungsprodukte findet man wesentlich mehr undefinierbare Produkte mit uncharakteristischen, verschmierten UV-Spektren als bei B. Das ist aber im höheren Sauerstoffgehalt und der damit einhergehenden schwereren Dehydrierbarkeit der Substanz D begründet.

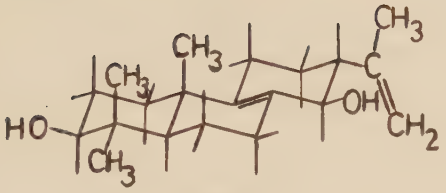
Im Schema 2 sind noch einmal alle mit der Substanz D angestellten chemischen Reaktionen zusammengefasst.

Schema 2.



2,4-DNP-Derivate nicht zuordenbar: 3 Fraktionen mit Maxima bei 362 mμ, 365 mμ und 368 mμ;

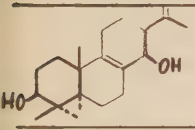
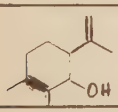
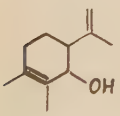
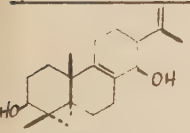
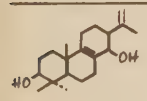
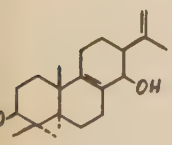
Fasst man die Ergebnisse unserer Untersuchungen an der Substanz D zusammen, so lassen sich über ihre Strukturelemente folgende Aussagen machen. D ist ein Diterpen-dialkohol von der Summenformel $C_{20}H_{32}O_2$ und dem Molekulargewicht 304. Am C-3 des Ringes A steht eine äquatoriale OH-Gruppe benachbart der geminalen Methylgruppierung am C-4, die zweite OH-Gruppe des Moleküls findet sich, ebenfalls in äquatorialer Orientierung, am C-14 des Ringes C direkt neben der Propenyl-Seitenkette. Der Wasserstoff am C-5 hat α-Konfiguration und damit gehört D der A/B-trans-Reihe an. Im Ringsystem zwischen C-8 und C-9 befindet sich die eine, in der Seitenkette, in einer endständigen Methylengruppe, die zweite Doppelbindung des Moleküls. Demnach besitzt D die nebenstehende Struktur XIV.



XIV

In der Tabelle 5 sind die Nachweisreaktionen für die einzelnen Strukturelemente der Substanz D noch einmal kurz zusammengefasst.

Tabelle 5. Strukturelemente der Substanz D und deren Nachweis.

Strukturelement	nachgewiesen durch:
	1.) Acetylierung: eingipfelige C-O-Valenzschwingung bei 1241 K 2.) Oxydation: gibt Keton XVII, λ_{max} 249 mμ; 3.) -C-O-Valenzschwingung bei 1027 K.
	1.) IR-Banden bei 1635 K und 889 K 2.) Katalytische Hydrierung: 1 Mol H_2-Verbrauch 3.) Verschwinden der 889 K-Bande nach Hydrierung
	1.) UV-Spektrum: λ_{max} 208 mμ 2.) SeO_2-Test pos. 3.) Katalytisch nicht hydrierbar: typisch für Δ^8 in A/B-trans-Reihe. Nach Hydrierung SeO_2-Test positiv. 4.) Oxydation gibt Keton XVII: λ_{max} 249 mμ
	1.) Asymmetrische C-CH_3Deformation bei 1456 K Symmetrische C-CH_3-Deformation bei 1376 K 2.) Anzahl der CH_3-Gruppen durch quantitative Auswertung der CH-Valenz- und CH_3-Deformationsschwingung.
	1.) Selendehydrierung liefert 1,7-disubstituiertes Phenanthren.
	1.) Molekulargewicht 304 aus Massenspektrum 2.) $C_{20}H_{32}O_2$ aus CH-Analyse.

45. Substanz E.

Substanz E, ein farbloses Harz, kommt zu 23,6 % im Teinervitermes-Sekret vor. Nach mehrmaliger Reinigung durch Dünnschichtchromatographie war die Substanz einheitlich, zeigte aber keine Neigung zur Kristallisation. Nach dem Molekül-Peak im Massenspektrum hat sie die Masse 3o2.

Betrachtet man das IR-Spektrum der Substanz E, so erkennt man sofort aus der Ähnlichkeit mit früheren Spektren, Abbildung 9, 18, und19, dass in dem Molekül mindestens eine äquatoriale Acetatgruppe vorhanden sein muss.

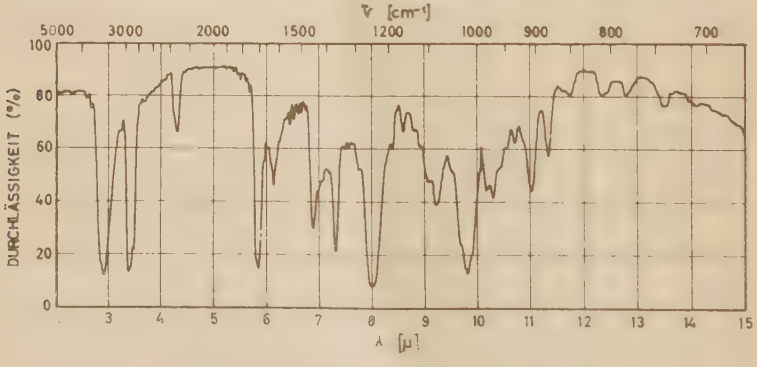


Abb.23. IR-Spektrum der Substanz E, fest in KBr, Mikropressling 1,5 mm ⌀.

Die -C=O- Valenzschwingung liegt bei 173o K (5,78 μ) und die dazugehörige -C-O- Valenzschwingung findet sich als eine starke eingipfelige Bande bei 125o K (8,oo μ), eine für äquatoriale Acetoxygruppen typische Anordnung. Daneben tritt noch bei 1o25 K (9,76 μ) eine ausgeprägte Bande auf, die ebenfalls einer -C-O- Valenzschwingung in Estern zugeschrieben wird.
Bei näherer Betrachtung der -C=O- Valenzschwingung bemerkt man, dass diese aufgespalten ist und bei 5,83 μ ein zweites Maximum besitzt, sodass damit ein Hinweis auf eine zweite Carbonylfunktion im Molekül der Substanz E gegeben ist. Nach der Lage der Bande bei 1715 K muss es sich dabei um die -C=O-Valenzschwingung einer im Sechsring stehenden Ketogruppe handeln. Die Annahme

findet eine weitere Bestätigung aus der Absorption bei 254 mμ im UV-Spektrum (Abbildung 4, Kurve E), wonach es sich hierbei um ein Δ^8-7-Keton handeln müsste. Nach Woodward (19) errechnet sich für diesen Verbindungstyp zwar eine Absorption bei 249 mμ, doch hat man in der Praxis stets Werte von 253 mμ gemessen (21). Ferner kann man dem IR-Spektrum entnehmen, dass die Verbindung E ungesättigt sein muss, denn bei 3o77 K (3,25 μ) findet sich die =CH-Valenzschwingung und bei 1634 K (6,12 μ) die -C=C- Valenzschwingung. Beide Banden sind für ungesättigte Verbindungen sehr typisch, sodass man mit Sicherheit eine oder mehrere Doppelbindungen in der Substanz E annehmen darf.

Um die Anwesenheit der aus dem Spektrum vorhergesagten Acetoxygruppe chemisch zu beweisen, führten wir mit der Substanz E eine alkalische Hydrolyse durch. Bei der üblichen Aufarbeitung erhielten wir saure Bestandteile und eine Neutralfraktion. Die sauren Bestandteile untersuchten wir mit Hilfe der Papierchromatographie. Dabei trat auf dem Chromatogramm beim Besprühen mit Ninhydrin-Lösung ein Fleck hervor, der in der Laufstrecke und in der Färbung mit dem Fleck der als Vergleichssubstanz aufgetragenen Essigsäure übereinstimmte.
Die gleiche Übereinstimmung ergab sich auch bei absteigender

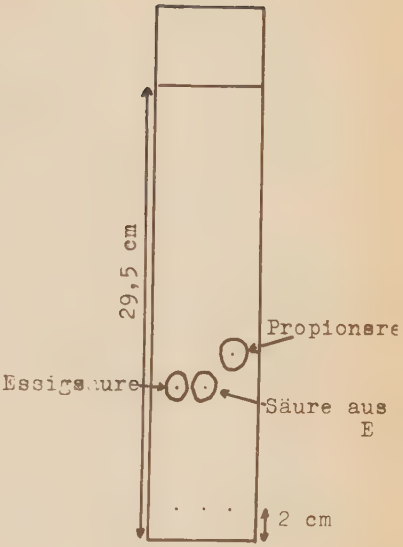


Abb.24. Papierchromatogramm der sauren Anteile aus der Verseifung von E. SS 2o43 b gewaschen; Fliessmittel: Äthanol:NH_3:Wasser 8o:4:16.

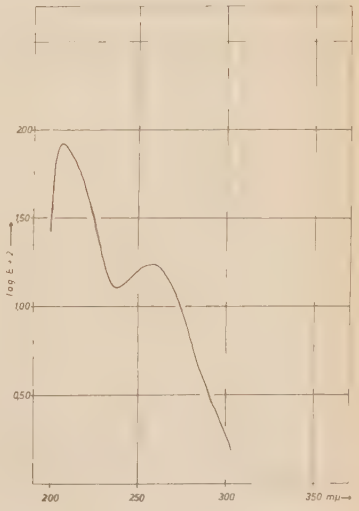


Abb.25. UV-Spektrum der Neutralfraktion aus der E-Verseifung, in Äthanol.

Chromatographie im System n-Butanol/NH_3. Damit ist die aus dem IR-Spektrum postulierte Anwesenheit einer Acetoxygruppe in der Substanz E auch auf chemischem Wege nachgewiesen.

Von der Neutralfraktion der Verseifungsprodukte der Substanz E erhielten wir das in der Abbildung 24 wiedergegebene UV-Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei 207 mμ und einem zweiten bei 257 mμ. Es muss also in E eine α,ß-ungesättigte Ketogruppe vorhanden sein, die zu der langwelligen Bande bei 254 bzw.

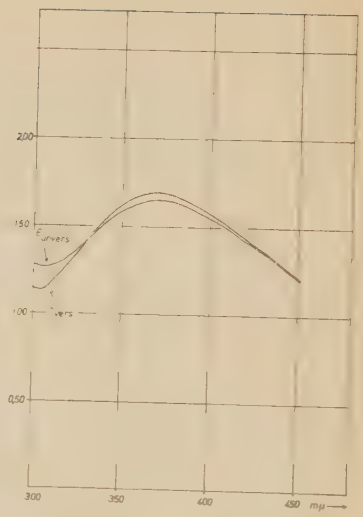


Abb.26. UV-Absorptionsspektrum der 2,4 DNP-Derivate der reinen Substanz E: $E_{unvers.}$ und der Neutralfraktion: $E_{vers.}$, beide gemessen in Äthanol.

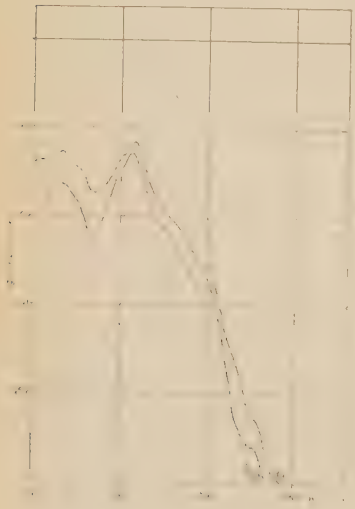
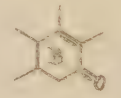


Abb.27. UV-Absorptionsspektrum der Selendehydrierungsprodukte der Substanzen E und F. Gemessen in n-Hexan.

257 mμ Anlass gibt. Wie schon erwähnt ist das besonders bei den Δ^8-7-Ketonen beobachtet worden (21):



Δ^8-7-Keton

ber.: λ_{max} 249 mμ
α,ß,ß.
gef.: λ_{max} 253 mμ

Schliesslich setzten wir noch die reine Substanz E und die Neutralfraktion der Verseifungsprodukte mit 2,4 Dinitrophenylhydrazin um und isolierten mit Hilfe der Säulen- und der

Dünnschichtchromatographie je ein 2,4-Dinitrophenylhydrazon, von deren UV-Absorptionsspektren jeweils der langwellige Teil in der Abbildung 25 wiedergegeben ist. Die Verbindung aus der reinen Substanz E zeigt ein langwelliges Maximum bei 37o mμ, die aus dem Verseifungsprodukt bei 368 mμ. Damit sind beide Verbindungen einwandfrei als cyclische Ketone ausgewiesen (2o), obwohl die Maxima der 2,4-DNPs für α,ß-ungesättigte Ketoverbindungen etwas kurzwellig liegen.

Die im IR-Spektrum, Abbildung 23, durch die =CH-Valenzschwingung bei 3o77 K und die -C=C-Valenzschwingung bei 1634 K angedeutete ungesättigte Natur der Substanz E konnten wir auch auf chemischem Wege durch eine deutliche Gelbfärbung bei der Tetranitromethan-Probe bestätigen.

Um nun noch einen Einblick in das Kohlenstoffgerüst der Substanz E zu erhalten, führten wir mit der Neutralfraktion aus der Verseifung eine Selendehydrierung durch. Das UV-Spektrum einer bei der üblichen Aufarbeitung erhaltenen Substanz zeigt die Kurve E_{deh} in der Abbildung 27. Zwar ist die Kurve lange nicht mehr so schön ausgeprägt wie die der Dehydrierungsprodukte bei den Substanzen B oder D, so zeigt sie doch noch den für Phenanthren-Derivate typischen Verlauf mit Maxima bei 216, 256, 3oo und 327 mμ. Allerdings war die Ausbeute an dieser Substanz sehr gering. Die Hauptmenge der Dehydrierungsprodukte sind Substanzen mit un-

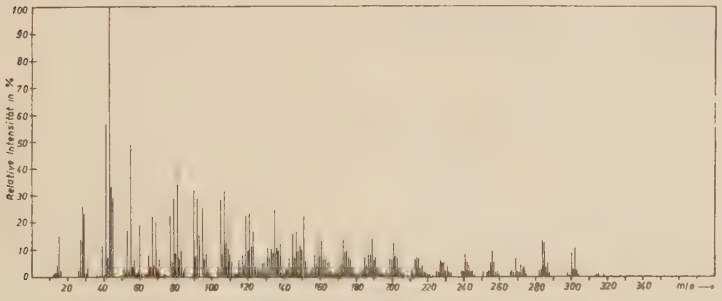


Abb.28. Massenspektrum der Substanz E.

definierten, verschmierten UV-Absorptionen. Der Grund für das so häufige Auftreten dieser undefinierbaren Nebenprodukte ist der hohe Sauerstoffgehalt und vorallem die Anwesenheit einer Ketogruppe in der Substanz E, denn derartige Verbindungen werden nur schwer durch Selen in die zugrunde liegenden aromatischen Kohlenwasserstoffe übergeführt.
Trotzdem aber darf man annehmen, dass auch der Substanz E das hydrierte Phenanthrengerüst zugrunde liegt.

Mit den bisher gemachten Aussagen stimmen auch die Ergebnisse der Massenspektrometrie, Abbildung 28, überein. Die Anwesenheit einer Acetoxy-Gruppe im Molekül wird durch das sehr Intensive Bruchstück mit der Masse 43, entsprechend der CH_3-CO - Gruppe, bestätigt. Ausserdem entsteht durch Abspaltung von Essigsäure, CH_3-COOH mit der Masse 6o, ein Fragmention der Masse 241. Die übrigen Bruchstücke können durch die gleichen Zerfallsreaktionen wie in den Massenspektren der Substanzen B und D erklärt werden. Zieht man vom Molekulargewicht 3o2 des Acetats die CH_3-CO - Gruppe (Masse 43) ab, so erhält man für die Grundsubstanz ein Molekulargewicht von 26o. Das bedeutet aber, dass der Grundalkohol, der ja ausserdem noch eine Ketogruppe enthalten muss, um zwei C-Atome ärmer ist als die Substanz B. Der freie Ketoalkohol hat etwa die Summenformel $C_{17}H_{24}O_2$, das im Sekret enthaltene Acetat demnach $C_{19}H_{26}O_3$.
Die Acetoxygruppe steht in äquatorialerOrientierung am C-3, die Ketogruppe müsste nach den Befunden der UV-Spektren am C-7 zu finden sein und dazu konjugiert zwischen C-8 und C-9 eine Doppelbindung. Über die Stellung der zweifellos noch vorhandenen Methylgruppen kann aus dem vorliegenden Material keine Entscheidung getroffen werden.

46. Substanz F.

Die harzige, leicht gelbliche Substanz F liefert mit 3,8 % den geringsten Anteil zum Trinervitermes-Sekret. Bei der unter 23 beschriebenen dünnschichtchromatographischen Trennung des Sekrets bleibt sie am Start sitzen, woraus man schliessen kann, dass sie die polarste unter den Substanzen des Sekrets ist. Ihre Einheitlichkeit überprüften wir papierchromatographisch in dem schon früher erwähnten System Heptan/Phenylcellosolve (7), in welchem die Verhältnisse gegenüber der Dünnschichtchromatographie umgekehrt sind. Die polareren Substanzen laufen weiter als die unpolaren, sodass dieses System für unsere Zwecke besonders gut geeignet war. Unter normalen Bedingungen erwies sich die Substanz F als einheitlich, erst wenn man auf das Papierchromatogramm etwa das zehnfache der normalen Menge aufträngt, bemerkt man unterhalb der Substanz F, also noch polarer als diese, beim Besprühen mit $SbCl_3$-Reagens einen im UV-Licht rötlichen Flecken. Diese geringe Verunreinigung vernachlässigten wir, zumal wir auf der Dünnschicht keine weitere Trennung mehr erreichen konnten.

Das in der Abbildung 29 wiedergegebene IR-Spektrum der Substanz F zeigt im Gegensatz zu den bisher behandelten Spektren nur wenige scharfe Banden. Gut ausgeprägt sind lediglich die CH-Valenzschwingungen im kurzwelligen Teil des Spektrums. Wegen ihrer geringen Auflösung haben sie aber weiter keinen Aussagewert. Die davor liegende OH-Valenzschwingung bei 3425 K (2,92 μ) ist sehr intensiv und lässt auf einen hohen Anteil von OH-Gruppen im Molekül schliessen, wodurch auch eine Erklärung für die relativ hohe Polarität der Substanz gegeben wäre.
Im mittleren Bereich finden wir noch eine -C=O - Valenzschwingung bei 1721 K (5,81 μ), sowie die asymmetrische bzw. symmetrische $C-CH_3$-Deformation bei 1460 K (6,85 μ) bzw. 1377 K (7,26 μ).
Die restlichen Banden sind breit und verwaschen wie man das häufig bei stark verunreinigten Substanzen antrifft. Die papierchromatographisch festgestellte geringe Verunreinigung der Substanz F kann aber nicht Schuld sein an den unscharfen Banden des Spektrums, da ihr Anteil weit unter der IR-spektroskopischen Erfassungsgrenze liegt. Der Grund für diese Erscheinung muss also bei der Substanz selbst zu suchen sein. Auf der Suche nach ähnlich

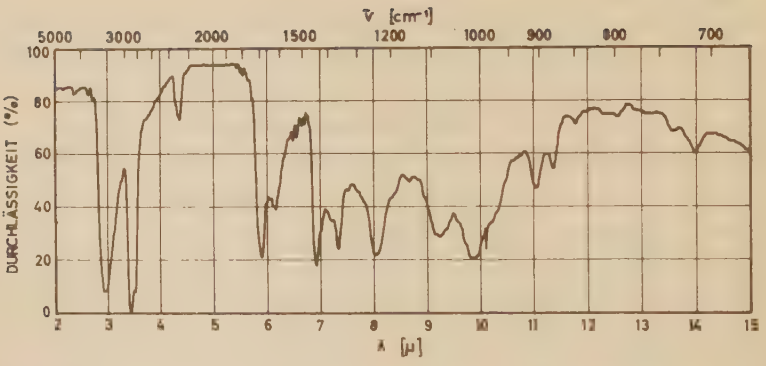


Abb.29. IR-Spektrum der Substanz F, fest in KBr; Mikropressling 1,5 mm ø.

aussehenden IR-Spektren fanden wir bei Reichstein (7) das Spektrum einer als Glykosid JB 15 bezeichneten Substanz, welches eine grosse Ähnlichkeit zur Substanz F zeigt. Andere Glykoside mit dem hydrierten Phenanthrengerüst im Grundkörper, wie das Gitonin, das Lanatosid A, das K-Strophanthin oder das Uzarin zeigen alle die gleichen breiten, etwas verschmierten Banden im Bereich der -C-O- Valenzschwingungen zwischen 9 und 1o μ wie das bei unserem Spektrum der Substanz F auch der Fall ist.

Aus diesem Grund unterwarfen wir die Substanz F einer energischen sauren Hydrolyse (7) mit einer "Kiliani-Mischung" (22) und erhielten in der wässerigen Phase tatsächlich eine positive Zuckerreaktion mit Anilinphthalat. Daraufhin identifizierten wir

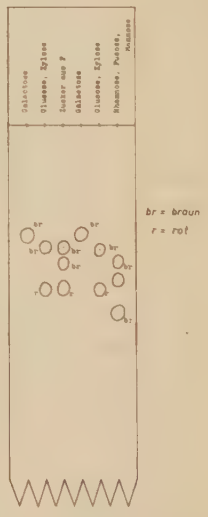


Abb.3o. Papierschromatogramm der Trinervitermes-Zucker. System: SS 2o43 b Mgl, Fliessmittel: Butanol: Pyridin: Wasser = 6:4:3.(23 Technik: 2o Stunden absteigend, besprühen mit Anilinphthalat-Lösung, erhitzen auf 11o°.

papierchromatographisch die drei Zucker als Glucose, Xylose und Mannose. Dabei überwiegt die Glucose bei weitem, die beiden anderen Zucker findet man erst in stärkerer Konzentration der wässrigen Hydrolysenlösung.
Dabei muss die Frage offen bleiben, ob alle drei Zucker glycosidisch an die Substanz F gebunden sind, oder ob die Glucose als der überwiegend gefundene Zucker von F stammt, während die beiden anderen von der zuvor erwähnten Verunreinigung der Substanz F kommen. Um dies zu klären reichte unsere Substanz nicht aus.

Das bei der sauren Hydrolyse der Substanz erhaltene "Genin"-F dehydrierten wir mit Selen und erhielten neben sehr viel undefinierten Substanzen eine Fraktion, die das in der Abbildung 27 als F_{deh} bezeichnete UV- Spektrum lieferte. Damit ist aber gezeigt, dass auch dem "Genin" des Glycosids F das hydrierte Phenanthren-Gerüst zugrunde liegt. Wegen einer positiven Tetranitromethan-Reaktion einerseits und der -C=O - Valenzschwingung bei 1721 K andererseits muss man im Ringsystem des Genins noch mindestens eine Doppelbindung und eine Carbonylgruppe annehmen, die zueinander in Konjugation stehen, siehe UV-Spektrum in der Abbildung 4 (Kurve F). Das "Genin"-F steht damit der Substanz E nahe. Durch die glycosidische Verknüpfung mit den Zuckern wird das Molekül polarer und bleibt deshalb bei der Dünnschichtchromatographie hinter den anderen Substanzen des Sekrets zurück.

EXPERIMENTELLER TEIL.

1. Extraktion der Soldatenköpfe.

Zunächst entfernten wir den die Köpfe umgebenden, schon sekrethaltigen Alkohol mit einer Kapillarpipette und legten so die Köpfe trocken. Die trockenen Soldatenköpfe wurden in Portionen zu je 5o bis 1oo Stück in einem kleinen Reagensglas mit einem genau eingepassten Glaspistill unter UV-reinem, absolutem Äthanol ganz fein verrieben. Nach Dekantieren des Lösungsmittels wurde neuer Alkohol zugegeben und das Verreiben wiederholt. Diese Behandlung setzten wir solange fort, bis eine Probe des dekantierten Lösungsmittels rückstandfrei verdunstete. Anschliessend schlämmten wir den gesamten Rückstand noch einmal mit dem Lösungsmittel auf und filtrierten ab.
Der getrocknete Rückstand wurde probeweise noch mit Chloroform extrahiert, wobei aber nur sehr geringe Mengen von Fett, vermutlich Körperfett der Termiten, erhalten wurden.

2. Vorversuche.

21. UV- und IR-spektroskopische Untersuchungen.

Alle in dieser Arbeit angeführten UV-Absorptionsspektren wurden mit einem Zeiss-Spektral-Photometer PMQ II gemessen. Das verwendete Lösungsmittel ist bei den einzelnen Spektren jeweils angegeben.
Sämtliche hier angegebenen IR-Spektren erhielten wir mit einem Perkin-Elmer 221 Zweistrahlgerät. Die Aufnahmetechnik ist bei jedem Spektrum extra vermerkt.

22. Salkowski - Reaktion.

Dazu löst man auf einer Tüpfelplatte einige Gamma des Rohsekrets in einem Tropfen Chloroform und versetzt dann diese Lösung mit

dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure und beobachtet das Farbenspiel.

23. Reaktion nach Lieberman - Burchard.

Man versetzt unter Kühlung eine Lösung einiger Gamma des Rohsekrets in Chloroform mit Acetanhydrid und diese Mischung dann mit konzentrierter Schwefelsäure. Die Kühlung erfolgte durch unter die Tüpfelplatte gelegte Eiswürfel.

24. Reaktion mit Benzoylperoxyd und konzentrierter Schwefelsäure.

In einem kleinen Reagenzglas löst man etwas Rohsekret in Chloroform und versetzt die Lösung mit ein paar Kristallen von Benzoylperoxyd. Man kocht kurz auf und gibt nach dem Erkalten der Lösung einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu, wonach die Färbung sofort auftritt.

25. Reaktion mit Acetylchlorid und $ZnCl_2$.

Man versetzt in einem kleinen Reagenzglas eine Lösung von Rohsekret in Eisessig mit Acetylchlorid und einer kleinen Spatelspitze $ZnCl_2$. Beim Kochen der Lösung tritt die beschriebene Rotfärbung ein. Unter der UV - Lampe beobachtet man orangefarbene Fluoreszenz.

26. Halphen-Hicks-Test.

Halphen und Hicks führten ihren Test auf einer Tüpfelplatte aus, während wir ihn als Tüpfelprobe auf Filterpapier übertrugen. Dazu trägt man die äthanolische Lösung des Rohsekrets auf ein Filterpapier auf, trocknet und besprüht mit einer Lösung von Phenol in Tetrachlorkohlenstoff (5o Vol%). Den besprühten Substanzflecken setzt man Bromdämpfen aus, wobei nach kurzer Zeit Farbflecken auftreten.

3. Die Trennung.

Zur chromatographischen Trennung der Substanzen des Rohsekrets verwendeten wir mit Aluminiumoxyd G (Merck) beschichtete Glas-

platten der Grösse 2o x 2o cm. Bevor wir die Substanz auftrugen, liessen wir zweimal das Fliessmittel über die Schicht laufen, damit im Schichtmaterial enthaltene Verunreinigungen, wie Fett und dgl., an den obersten, nicht verwendeten Rand der Platte gewaschen wurden. Nach dieser Reinigung der Schicht reaktivierten wir diese im Trockenschrank 3o Minuten lang bei 11o°. Auf die so vorbehandelten Platten trugen wir die nach 1 gewonnene äthanolische Lösung des Sekrets als 1o cm breiten Strich 2 cm vom unteren Plattenrand entfernt auf und entwickelten mit Chloroform(Merck) in einer mit Lösungsmitteldampf gesättigten Kammer, die zu diesem Zweck mit Filtrierpapierstreifen ausgekleidet war. Nach einer Gesamtlaufstrecke von 18,5 cm wurde die Chromatographie abgebrochen, die Platte an der Luft getrocknet und unter der UV-Lampe die Zonen anhand ihrer Fluoreszenz festgestellt. Mit einer Rasierklinge schabten wir dann die substanzhaltigen Streifen von der Platte, sammelten die einzelnen Anteile und eluierten sie schliesslich mit reinem Äther (Merck), der zur Gewinnung der Substanzen im Vakuum abgezogen wurde.
Die hier geschilderte Trennoperation wiederholten wir mit den einzelnen Fraktionen so lange , bis die Substanzen sowohl auf der Aluminiumoxyd- als auch auf der Kieselgelschicht nur noch einen Fleck ergaben.
Im Vorversuch zur dünnschichtchromatographischen Trennung lokalisierten wir die Substanzstreifen auf der Schicht nicht durch ihre Fluoreszenz, sondern teilten das ganze Chromatogramm von der Lösungsmittelfront her in 17 gleichbreite (1 cm) Fraktionen, die wir ebenfalls mit Äther eluierten und deren Substanzmenge wir gravimetrisch ermittelten. Dabei ergab sich das in Abbildung 3 dargestellte Bild der Substanzverteilung auf der entwickelten Aluminiumoxydschicht.

31. Herstellung rückstandfreien Äthers für die Elution.

Bei den von uns gehandhabten geringen und geringsten Substanzmengen war die absolute Reinheit der verwendeten Lösungsmittel von entscheidender Bedeutung. Besonderen Wert mussten wir auf die rückstandfreie Verdunstung der Lösungsmittel legen, um nicht unsere mühsam erhaltenen Substanzen durch nicht entfernbare Verunreinigungen aus den Lösungsmitteln unbrauchbar zu machen.

Ganz besonders galt dies für den zur Elution der Schichten verwendeten Äther. Diesen reinigten wir durch "Tieftemperaturdestillation". Dazu dient eine höchst einfache Anordnung von zwei Rundkolben, die durch eine Brücke miteinander verbunden sind . Den einen Kolben, in dem sich der vorgereinigte Äther (Merck) befindet, hält man auf Raumtemperatur, während man den anderen in einen Kühlthermostaten von etwa -1o°C Badtemperatur eintaucht. Nach ca. 6o Tagen kann man dem gekühlten Kolben 5oo ml rückstandfreien Äthers entnehmen, der für die Elution bestens geeignet ist.

41. Substanz A.

411. Massenspektrum der Substanz A.

Das in Abbildung 6 dargestellte Massenspektrum der Substanz A, sowie alle anderen in dieser Arbeit wiedergegebenen Massenspektren, wurde freundlicherweise für uns bei der Shell-Forschung, Birlinghoven, gemessen, wofür an dieser Stelle den Herren Prof. Dr. Korte und Dr. Weidkamp bestens gedankt sei.
Die Messung wurde mit einer Ionisierungsspannung von 7o V und einer Ionenquellentemperatur von 25o° durchgeführt. Gemessen wurde bis 5oo m/e, sodass ein höher liegender Molekülpeak nicht übersehen werden konnte.

42. Substanz B.

Das Zonenreinigen der Substanz B und CH-Analyse.

Die nach zweimaliger Dünnschichtchromatographie noch leicht gelbliche Substanz B wurde in ein Glasröhrchen von 1,5 mm ø eingeschmolzen und in eine entsprechende Mikrozonenschmelzapparatur eingesetzt. Wegen der sehr zähen Schmelze der Substanz konnte nur eine Zuggeschwindigkeit von o,3 mm/h verwendet werden. Nach dem Durchgang von 2o Schmelzzonen wurde der Reinigungsprozess abgebrochen. Der Schmelzling zeigte einen breiten, rein farblosen Kopf und ein tief gelb gefärbtes Ende.
Die Substanz aus dem vorderen Teil des Schmelzlings ergab im Dünnschichtchromatogramm auch in sehr hoher Konzentration nur einen Fleck an der aus Abbildung 3 ersichtlichen Stelle.

Der Schmelzpunkt, bestimmt mit einem Leitz Schmelzpunktsmikroskop, lag bei 125,5 - 127°C.
Die CH-Analyse lieferte folgende Werte:

$C_{2o}H_{32}O$ (288)	gef.:	C	81,4o %	H	11,o9 %	O	7,51 %
	ber.:	C	83,33 %	H	11,11 %	O	5,55 %

Trotz des Fehlens von 1,9 % im C-Wert und damit im daraus berechneten O-Wert passen die Analysenwerte am besten auf die Formel $C_{2o}H_{32}O$, deren Molekulargewicht von 288 massenspektrometrisch sehr genau ermittelt wurde.

421. Berechnung des Methylgehaltes aus den CH-Banden.

Die für die Berechnung notwendige Intensität der CH-Valenzschwingungen zwischen 2941 und 2849 K und der C-CH_3 - Deformationsschwingung bei 1376 K bestimmten wir gravimetrisch. Dazu zeichneten wir die entsprechenden Banden mit Kohlepapier vom Spektrum auf einen gleichmässig starken Karton durch, schnitten sie aus und bestimmten ihr Gewicht mit der Mikrowaage. Bei gleicher Kartonstärke, davon haben wir uns zuvor vergewissert, ist das Gewicht der Banden direkt proportional ihrer Intensität.
Wir erhielten für die CH-Valenzschwingungen o,3o388 g
und für die CH_3-Deformationsschwingungen o,o5784 g.
Daraus errechnet sich für die Substanz B ein Methylgruppengehalt von 19,35 %. Bei einem Molekulargewicht von 288 bedeutet das die Anwesenheit von 4 Methylgruppen im Molekül.

422. Massenspektrum der Substanz B.

Die Messung wurde mit einer Ionisierungsspannung von 7o V und einer Ionenquellentemperatur von 25o° durchgeführt. Da das Spektrum bis m/e = 5oo aufgenommen wurde, ist es sicher, dass 288 das Molekulargewicht der Substanz B ist. Ein höher liegender Molekularpeak konnte also nicht übersehen werden.

423. Untersuchung der Substanz B mit chemischen Methoden.

4231. Katalytische Hydrierung der Substanz B.

Die Hydrierung wurde in einem Mikrohydriergerät ausgeführt, bei dem man den Wasserstoffverbrauch auf o,o2 ml genau ablesen konnte.

Beim ersten Versuch verwendeten wir absolutes Äthanol als Lösungsmittel und Pd/C als Katalysator. 2 mg des Katalysators wurden in 3 ml Äthanol bis zur Volumenkonstanz vorhydriert. Anschliessend wurden 3,o5 mg der Substanz B hinzugefügt und die Hydrierung fortgesetzt. Nach etwa einer halben Stunde war der Wasserstoffverbrauch zu Ende; während der nun folgenden 23 1/2 Stunden traten nur noch geringfügige Schwankungen auf, sodass man die Hydrierung als beendet betrachten musste. Während der gesamten Hydrierung wurde die Apparatur durch einen Thermostaten bei einer Temperatur von 2o°C gehalten.

Ergebnis: Einwaage an B = 3,o5 mg
H_2-Verbrauch = o,28 ml (auf Normalbedingungen ber.)
für $C_{2o}H_{32}O$ ber. = o,237 ml

Demnach verbrauchte die Substanz nur 1 Mol Wasserstoff. Der Fehler von o,o43 ml kann durch undichte Stellen in der Apparatur und durch Wäge- und Ablesefehler zustandegekommen sein.

Beim zweiten Versuch diente Eisessig als Lösungsmittel und Platinoxyd als Katalysator. Das Platinoxyd wurde mit H_2 reduziert bis zur Volumenkonstanz und dann die Substanz zugegeben. Die Hydrierung wurde wieder 24 Stunden lang durchgeführt, obwohl der Hauptverbrauch an Wasserstoff nach den ersten 2o Minuten beendet war. Die Temperatur des Systems hielten wir bei 2o°.

Ergebnis: Einwaage an B = 2,98 mg
H_2-Verbrauch = o,31 ml(für Normalbed. ber.)
für $C_{2o}H_{32}O$ ber. = o,231 ml

Trotz des hier noch grösseren Fehlers von o,o79 ml ist klar, dass die Substanz nur 1 Mol Wasserstoff verbraucht, da nach 1-tägiger Einwirkung eines so aktiven Systems, wie Pt/Eisessig, der Verbrauch immer noch wesentlich näher bei einem als bei zwei Mol liegt. Bei so geringen Einwaagen an zu hydrierender Substanz machen sich schon kleine Wäge- und Ablesefehler beim H_2-Verbrauch unangenehm bemerkbar. Ausserdem ist es wahrscheinlich unmöglich, eine Apparatur so abzudichten, dass innerhalb von 24 Stunden kein Wasserstoffverlust eintreten kann.

4232. Acetylierung der Substanz VI.

Man löst 1 mg der Substanz VI in etwa o,2 ml Pyridin und fügt dieser Lösung o,2 ml Essigsäureanhydrid zu. Im geschlossenen Gefäss lässt man die Mischung 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen und entfernt anschliessend das Pyridin und nicht verbrauchtes Essigsäureanhydrid durch vorsichtiges Erwärmen unter Wasserstrahlvakuum. Das so erhaltene Rohprodukt ist noch durch sehr geringe Mengen der Ausgangssubstanz verunreinigt (siehe Chromatogramm der Abbildung 9.
Für die IR-Spekroskopie reinigten wir einen Teil des Rohprodukts durch präparative Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel G - Platten mit Chloroform als Fliessmittel. Die Substanz wurde durch ihre Fluoreszenz unter der UV-Lampe lokalisiert. Trotz der Trennoperationen erhält man das Dihydro-B-Acetat (VII) nur als ein farbloses Harz.
Bei der Acetylierung der reinen Substanz B verfuhren wir in genau der gleichen Weise. Auch hier erhielten wir ein farbloses Harz als Acetylierungsprodukt.

4233. Reaktion mit Tetranitromethan.

Diese Reaktion führten wir auf einer Tüpfelplatte durch. Zu einigen Gamma der zu prüfenden Substanz gibt man einen Tropfen Tetranitromethan und beobachtet die eintretenden Färbungen. Die Anwesenheit einer Doppelbindung in der untersuchten Substanz macht sich durch mehr oder weniger starke Gelbfärbung der Reaktionsmischung bemerkbar.
Die Substanz B gibt eine intensive Gelbfärbung, während Dihydro-B eine etwas blassere Gelbfärbung zeigt.

4234. Reaktion mit Selendioxyd.

Reagenslösung: Man löst 1,11 g Selendioxyd unter Erwärmen in 2 ml Wasser und verdünnt nach dem Abkühlen mit Eisessig auf 1oo ml.
Test: Man löst etwa o,5 mg der zu untersuchenden Substanz in o,25 ml Benzol und gibt bei Raumtemperatur o,5 ml der nach obiger Vorschrift bereiteten Selendioxydlösung zu.
Bei Anwesenheit einer Δ^7 - oder Δ^8 - Verbindung tritt innerhalb

von 8 Minuten eine Gelbfärbung auf und nach 1o - 3o Minuten scheidet sich reichlich rotes Selen ab. Substanzen, die nach 1 Stunde noch keine Gelbfärbung ergeben, enthalten keine der genannten Doppelbindungen.
Bei Ausführung des Tests mit Substanz B trat bereits nach 5 Minuten eine deutlich wahrnehmbare Gelbfärbung auf und nach etwa 25 - 3o Minuten konnte man an der rötlichen Farbe elementares Selen erkennen. Genauso verlief der Test mit Dihydro-B (VI).

4235. Berechnung des Methylgehaltes der Substanz VI.

Wir wendeten das gleiche Verfahren wie in 422 an und erhielten
für die CH-Valenzschwingungen o,27o72 g
für die C-CH_3-Deformationsschwingung o,o7551 g
Daraus errechnet sich für Dihydro-B (VI) ein Methylgruppengehalt von 27,9o %. Das bedeutet bei einem Molekulargewicht von 29o die Anwesenheit von 5 Methylgruppen.

4236. Oxydation von VI mit CrO_3 in Aceton.

CrO_3-Reagens: Man löst 26,72 g CrO_3 in 23 ml konzentrierter Schwefelsäure und verdünnt mit Wasser auf 1oo ml.
Durchführung der Oxydation: Zu einer kalten Lösung der Substanz VI in etwa o,2 ml Aceton wurden schnell ca. o,2 ml der oben beschriebenen CrO_3-Lösung zugegeben. Nach einer Einwirkungsdauer von 5 Minuten verdünnt man das Reaktionsgemisch mit o,2 ml Wasser, reduziert das überschüssige CrO_3 mit SO_2 und schüttelt mit Äther aus. Die ätherische Lösung trocknet man über Nacht mit Natriumsulfat, filtriert ab und verdampft den Äther. Es bleibt eine farblose, harzige Substanz, die zur Umsetzung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin Verwendung fand.
Umsetzung der Oxydationsprodukte mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin:
2,4-Dinitrophenylhydrazin-Lösung: Man löst 125 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin unter leichtem Erwärmen in einer Mischung von 15 ml absolutem Äthanol und o,4 ml konzentrierter Salzsäure.
Benedicts Lösung: Zu 1oo ml einer wässrigen Lösung, die 17,3 g Natriumcitrat und 1o g Soda enthält, gibt man langsam und unter Rühren 1,7 g $CuSO_4$ .5 H_2O in 15 ml Wasser.

Reaktion: Das Oxydationsprodukt wird in ca. o,1 ml absolutem Äthanol gelöst, etwa o,2ml der 2,4-DNP-Lösung zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dann gibt man o,4 ml Benedicts Lösung und o,4 ml Wasser zu und erhitzt 1o Minuten lang auf 95°(Wasserbad). Man spült danach die Mischung mit etwas Wasser in einen kleinen Schütteltrichter und extrahiert mit Chloroform, welches anschliessend mit dem halben Volumen Wasser gewaschen und über Nacht mit Na_2SO_4 getrocknet wird. Man filtriert ab und dampft zur Trockene ein.

Chromatographie: Der Rückstand wird in n-Hexan : Benzol (1 : 1) aufgenommen und an einer Säule von Kieselgel adsorbiert. Aus dem tiefgelb gefärbten Kopf der Säule eluiert man nun mit reinem Benzol zwei gelbe Zonen, von denen Fraktion 1 relativ schwach vertreten ist. Fraktion 2, welche nach dem Austritt von 1 aus der Säule mit Benzol : Chloroform (1 : 9) eluiert wird, bleibt mengenmässig hinter der mit reinem Chloroform eluierten Fraktion 3 zurück. Diese bildet die Hauptmenge und hinterlässt, ebenso wie die anderen beiden Fraktionen, nach dem Verdampfen des Lösungsmittels eine gelbe Substanz.

Fraktion 3 zeigt einen Schmelzpunkt von 142°C.

Fraktion 2 besass einen Schmelzpunkt von 12o° und konnte papierchromatographisch als 2,4-DNP-Derivat von Aceton identifiziert werden, weshalb es aus unseren Betrachtungen ausschied.

Fraktion 1 lag in zu geringer Menge vor, als dass eine Schmelzpunktsbestimmung durchgeführt werden konnte.

Von Fraktion 1 und 3 wurden UV-Absorptionsspektren aufgenommen (Abbildung 11). Als Lösungsmittel diente Äthanol.

4237. Selendehydrierung der Substanz B.

Reaktion: 2 mg der kristallinen Substanz B werden mit 3mg feinst gepulverten Selens gut vermischt und in ein starkwandiges, unten abgeschmolzenes Glasröhrchen eingefüllt. Zunächst erhitzt man die Mischung im offenen Röhrchen etwa 15 Minuten lang auf ca. 18o°C, damit Wasser oder andere bei dieser Temperatur schon entstehende Spaltprodukte entweichen können. Danach wird das Röhrchen zugeschmolzen und im Metallbad 48 Stunden lang auf 33o°C erhitzt.

Nach dieser Zeit hat der Rohrinhalt eine intensive braun-grüne Fluoreszenz angenommen und beim Öffnen des Rohrs nimmt man sofort den penetranten Geruch des entstandenen Selenwasserstoffs wahr. Aufarbeitung: Der Rohrinhalt, eine ölige Substanz, durchsetzt von mehr oder weniger grossen Brocken von Selen, wurde zunächst mit Äther aus dem Reaktionsgefäss herausgelöst, die Selenbrocken unter Äther mit einem Glaspistill zerstossen. Die vereinigten Ätherextrakte lieferten nach dem Verdunsten des Lösungsmittels eine gelb-

Tabelle 6. Chromatographie der Dehydrierungsprodukte.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		Fluoresz. im UV	Aussehen	UV-Absorptionsspektrum
1-5	Pentan	keine	farbl.Öl	Paraffin (IR-Spektr.)
6	Pentan:Hexan 3:1	-	-	-
7	Pentan:Hexan 1:1	-	-	-
8	Pentan:Hexan 1:3	hellblau	farbl.Öl	Naphthalinderivat
9	Hexan	hellblau	farbl.Öl	Naphthalinderivat
1o	Hexan:Benzol 8:2	hellblau	farbl.Öl	Gemisch aus 9 u. 11
11-13	Hexan:Benzol 8:2	blau	farbl.Öl	Phenanthrenderiv. T 12
14	Hexan:Benzol 6:2	blau	farbl.Öl	verunreinigtes 13
15	Hexan:Benzol 4:2	blau	farbl.Öl	Phenanthrenderiv. T 15
16	Hexan:Benzol 3:2	blau	farbl.Öl	verunreinigtes 15
17	Benzol	grünlich	gelbl.Öl	undefinierbar
18	Chloroform	grünlich	gelbes Öl	unreines Phenanthr.
19-22	Äther	grün	gelbes Öl	undefinierbar
23-25	Essigester	gelb	braungelb. Wachs	undefinierbar

braune, schmierige Substanz, die wir in n-Pentan aufnahmen. Ihre Löslichkeit in diesem Lösungsmittel ist nicht gerade sehr gut. Diese n-Pentanlösung adsorbierten wir an einer Säule von 2,7 g basischem Aluminiumoxyd (Woelm) und eluierten anschliessend mit den in der Tabelle 6 angegebenen Lösungsmitteln. Aufgefangen wur-

den jeweils Fraktionen von ca 3 ml. Die Raumtemperatur, bei der die Chromatographie durchgeführt wurde, betrug 24,5°C.
Die Substanzen der Fraktionen 11-13 wurden wegen der Identität ihrer UV-Spektren zusammengefasst und auf das Papierchromatogramm Abbildung 13, aufgetragen.
Papier: Schleicher & Schüll 2o43b gewaschen, imprägniert mit Phenylcellosolve.
Fliessmittel: n-Heptan gesättigt mit Phenylcellosolve.
Technik: absteigendes Durchlaufverfahren.

43. Substanz C.

432. Massenspektrum der Substanz C.

Die Messung wurde mit einer Ionisierungsspannung von 7oV und einer Ionenquellentemperatur von 25o°C durchgeführt. Gemessen wurde bis m/e 5oo.
Wegen der geringen vorhandenen Substanzmenge konnte dieses Massenspektrum nicht quantitativ ausgewertet werden und hat damit nur zur Molekulargewichtsbestimmung dienen können.

44. Substanz D.

441. Berechnung des Methylgehaltes aus den CH-Banden.

Wir wendeten das gleiche Verfahren wie unter 421 beschrieben an. dabei erhielten wir
für die CH-Valenzschwingungen o,2644o g
für die C-CH_3-Deformationsschw. o,o5495 g.
Daraus errechnet sich für die Substanz D ein Methylgruppengehalt von 2o,8 %. Bei einem Molekulargewicht von 3o4 bedeutet das vier Methylgruppen im Molekül.

442. Massenspektrum der Substanz D.

Ionisierungsspannung 7oV;
Ionenquellentemperatur 25o°C.
Gemessen wurde bis m/e 5oo.

443. Untersuchungen der Substanz D mit chemischen Methoden.

4431. CH-Analyse der Substanz D.

Die CH-Analyse lieferte folgende Werte:

$C_{20}H_{32}O_2$	(304)	gef.:	C 75,81 %	H	10,03 %
		ber.:	C 78,94 %	H	10,50 %

Trotz eines Fehlers von 3,13 % im C-Wert und damit auch im daraus berechneten O-Wert passen die Analysenwerte am besten auf die Formel $C_{20}H_{32}O_2$, deren Molekulargewicht 304 massenspektrometrisch sehr genau ermittelt wurde.

4432. Acetylierung der Substanz D.

Acetylierung und Aufarbeitung der Acetylierungsprodukte erfolgte analog der unter 4232 gegebenen Vorschrift.

Eingesetzte Substanzmenge: 1,2 mg Substanz D, 0,2 ml Pyridin (p.A. Merck) und 0,2 ml Essigsäureanhydrid (Merck).

Reaktionsdauer: 48 Stunden bei Raumtemperatur.

4433. Katalytische Hydrierung der Substanz D.

Die Ausführung dieser Reaktion erfolgte wie unter 4231 beschrieben. Im ersten Versuch verwendeten wir Pd/C als Katalysator und Äthanol als Lösungsmittel.
Reaktionsdauer: 24 Stunden bei 20°C.

Ergebnis:	Einwaage an D	= 3,13	mg
	H_2-Verbrauch gemessen	= 0,29	ml (f.Normalbed.ber.)
	für $C_{20}H_{32}O_2$ berechnet	= 0,230	ml
	Fehler	= 0,060	ml

Im zweiten Versuch verwendeten wir Platinoxyd als Katalysator und Eisessig als Lösungsmittel.
Reaktionsdauer: 24 Stunden bei 20°C.

Ergebnis:	Einwaage an D	= 3,24	mg
	H_2- Verbrauch gemessen	= 0,28	ml (f.Normalbed.ber.)
	für $C_{20}H_{32}O_2$ berechnet	= 0,238	ml
	Fehler	= 0,042	ml

Obwohl beide Werte zu hoch liegen, kann die Substanz nur ein Mol Wasserstoff verbraucht haben. Die Abweichungen vom theoretischen Wert erklären sich durch undichte Stellen an der Apparatur, durch Wäge- und Ablesefehler und durch Fehler, die durch Temperaturschwankungen entstehen.

4434. Reaktion mit Tetranitromethan.

Ausführung und Ergebnis der Reaktion wie bei 4233 beschrieben.

4435. Reaktion mit Selendioxyd.

Bereitung der Reagenzlösung und Ausführung des Tests wie bei 4234. Bei Substanz D trat die Gelbfärbung nach etwa 7 Minuten auf, nach 3o Minuten zeigte sich Rotfärbung durch elementares Selen.
Die Reaktion mit Dihydro-D verlief genau so.

4436. Oxydation von Dihydro-D mit CrO_3 in Aceton.

Die Bereitungen der Reagenzlösungen, die Ausführung der Oxydation, die Umsetzung der Reaktionsprodukte mit 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung und deren Aufarbeitung erfolgte genau wie unter 4236 beschrieben.
Bei der Aufarbeitung durch Säulenschromatographie erhielten wir dieses Mal vier Fraktionen. Dabei zeigte die Fraktion 1 einen Fp von 117° und konnte durch Papierchromatographie als 2,4-DNP-Derivat des Acetons charakterisiert werden. Die drei folgenden Fraktionen lagen in weit geringeren Mengen vor, sodass keine Kristalle für eine Schmelzpunktbestimmung erhalten wurden. Ihre UV-Spektren zeigt die Abbildung 21 als Kurven 16, 17 und 18 gemessen in Äthanol.

4437. Selendehydrierung der Substanz D.

Reaktion und Aufarbeitung wie bei 4237.
Reaktionsdauer: 9o Stunden.
Reaktionstemperatur: $33o^{\circ}$.

Das Ergebnis der Chromatographie der Selendehydrierungsprodukte findet sich umseitig in der Tabelle 7.

Tabelle 7. Chromatographie der D-Dehydrierungsprodukte.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		Fluoresz. im UV	Aussehen	UV-Absorptions-Spektrum
1 - 5	Pentan	keine	farbl.Öl	Paraffin (IR-Spekr.)
6	Pentan:Hexan 3:1	-	- -	- -
7	Pentan:Hexan 1:1	hellblau	farbl.Öl	Naphthalinderivat
8	Pentan:Hexan 1:3	hellblau	farbl.Öl	Naphthalinderivat
9	Hexan	hellblau	farbl.Öl	Naphthalinderivat
1o	Hexan:Benzol 8:2	hellblau	farbl.Öl	Naphthalinderivat
11-12	Hexan:Benzol 8:2	hellblau	farbl.Öl	Gemisch aus 1o u.13
13	Hexan-Benzol 8:2	blau	farbl.Öl	Phenanthrenderivat
14	Hexan-Benzol 6:2	blau	farbl.Öl	verunreinigtes 13
15	Hexan-Benzol 4:2	blau	farbl.Öl	verunreinigtes 13
16	Hexan-Benzol 3:2	grünlich	gelbl.Öl	undefinierbar
17	Benzol	grün	gelb.Öl	undefinierbar
18	Chloroform	grün	gelb.Öl	undefinierbar
19-25	Essigester	tiefgelb	braunes Wachs	undefinierbar

45. Substanz E.

451. Alkalische Verseifung der Substanz E.

Reagenzlösung: 5 proz. äthanolische KOH. Dazu löst man KOH im gleichen Gewichtsteil Wasser und bringt diese Lösung mit 9o %igem Äthanol auf die gewünschte Stärke.

Hydrolyse: Etwa 1 mg der Substanz E wurde zusammen mit etwa o,5 ml der 5 prozentigen äthanolischen KOH in ein Glasröhrchen eingeschmolzen und eine Stunde lang in ein siedendes Wasserbad eingetaucht. Nach dem Abkühlen und Öffnen des Röhrchens bläst man einen Teil des Äthanols mit Stickstoff ab, versetzt die verbleibende Lösung mit ca. 2 ml Wasser und schüttelt dreimal mit je 2 ml Chloroform aus.
Die Chloroformschicht wäscht man zweimal mit Wasser und trocknet sie über Nacht mit Natriumsulfat. Man filtriert ab und verdunstet

das Lösungsmittel. Es verbleibt eine farblose harzige Substanz, deren UV-Spektrum in der Abbildung 24 gezeigt wird.

Die mit Chloroform extrahierte wässrig-alkalische Schicht aus der Verseifung vereinigt man mit dem Waschwasser der Chloroformschicht und säuert mit Phosphorsäure bis zu einem p_H von etwa 4 an. Diese Lösung extrahiert man 5 mal mit je 2 ml Äther, den man anschliessend über Nacht mit Natriumsulfat trocknet. Nach dem Abfiltrieren und Eindampfen des Äthers erhält man einen flüssigen Rückstand, welcher schwach nach Essig riecht.

Papierchromatographie der sauren Bestandteile aus der Verseifung:

1.) Papier: SS 2o43 b gewaschen.
Fliessmittel: Äthanol : NH_3 : Wasser = 8o : 4 : 16
Technik: aufsteigend.
Vor dem Sichtbarmachen der Flecken trocknet man das Chromatogramm kurz im Ofen, bis es nicht mehr nach NH_3 riecht. Dann besprüht man es mit Ninhydrin-Lösung und erhitzt es im Ofen auf etwa $11o^o$. Nach 5 bis lo Minuten werden die Säuren als blau-violette Flecken sichtbar.

2.) Papier: SS 2o43 b gewaschen.
Fliessmittel: n-Butanol/NH_3
Technik: absteigend, 28 Stunden.
Das Sichtbarmachen der Säuren erfolgt auch hier durch Besprühen mit einer Ninhydrin-Lösung wie oben.

452. Bildung der 2,4-Dinitrophenylhydrazone aus der Substanz E und aus der Neutralfraktion der Verseifung.

Die Umsetzung der Substanzen mit der 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Lösung und die Aufarbeitung der erhaltenen Hydrazone erfolgte genau nach der Vorschrift von 4236. Die Reaktionszeit der Substanzen mit der 2,4 DNP-Lösung erhöhten wir in diesem Fall auf 48 Stunden. Von jeder Substanz erhielten wir nun eine Fraktion bei der säulenchromatographischen Aufarbeitung der Umsetzungsprodukte. Ihre UV-Spektren finden sich in der Abbildung 25, gemessen in Äthanol.

453. Selendehydrierung der verseiften Substanz E.

Ausführung der Reaktion und Aufarbeitung der Reaktionsprodukte genau unter den gleichen Bedingungen wie bei 4237.
Reaktionsdauer: auf 1oo Stunden erhöht.
Reaktionstemperatur: 33o°.

Das Ergebnis der Säulenchromatographie ist in der Tabelle 8 zu finden.

Tabelle 8. Chromatographie der Dehydrierungsprodukte der verseiften Substanz E.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		Fluoresz. im UV	Aussehen	UV-Absorptionsspektrum
1 - 3	Pentan	keine	farbl.Öl	Paraffin (IR-Spekt.
4 - 5	Pentan	-	- -	-
6	Pentan:Hexan 3:1	-	- -	-
7	Pentan:Hexan 1:1	hellblau	farbl.Öl	Naphtalinderivat
8	Pentan:Hexan 1:3	hellblau	farbl.Öl	Gemisch aus 7 u.1o
9	Hexan	hellblau	farbl.Öl	Gemisch aus 7 u.1o
1o	Hexan:Benzol 8:2	hellblau	farbl.Öl	Phenanthrenderivat
11-13	Hexan:Benzol 8:2	blau	farbl.Öl	verunreinigtes 1o
14	Hexan:Benzol 6:2	grünlich	farbl.Öl	undefinierbar
15	Hexan:Benzol 4:2	grünlich	gelbl.Öl	undefinierbar
16	Hexan:Benzol 3:2	grünlich	gelbl.Öl	undefinierbar
17	Benzol	grün	gelb. Öl	undefinierbar
18-2o	Äther	grün	braun.Öl	undefinierbar
21-25	Essigester	gelb	braunes Wachs	undefinierbar

454 Reaktion mit Tetranitromethan.

Ausführung und Ergebnis der Reaktion wie bei 4233 beschrieben.

455. Massenspektrum der Substanz E.

Ionisierungsspannung 7o V.
Ionenquellentemperatur 25o°.
Gemessen wurde bis m/e 5oo.

46. Substanz F.

461. Energische saure Hydrolyse der Substanz F.

Kiliani-Mischung: Mischung von 35 ml Eisessig, 55 ml Wasser und lo ml konz. HCl.
Ausführung der Hydrolyse: 3 mg der Substanz F wurden auf dem Wasserbad 1 Stunde lang mit ca. o,2 ml Kiliani-Mischung auf loo° erhitzt. Danach dampft man im Wasserstrahlvakuum unter leichtem und sehr vorsichtigem Erwärmen bis zur Trockene ein, nimmt den Rückstand mit destilliertem Wasser auf, kocht zur besseren Lösung kurz auf und lässt abkühlen. Diese wässrige Lösung schüttelt man fünfmal mit ca. o,2 ml Chloroform aus, trocknet dieses über Nacht mit Natriumsulfat und erhält nach dem Abfiltrieren und Verdunsten des Lösungsmittels den "Geninanteil" der Substanz F.
Die wässrige Phase befreit man im Wasserstrahlvakuum vorsichtig von anhaftendem Chloroform und engt dann auf ein Volumen von ein bis zwei Tropfen ein. Mit dieser Lösung kann man nun Tüpfelreaktionen auf Zucker ausführen. Die Probe mit α-Naphthol auf Ketosen verlief negativ, die mit Anilinphthalat auf Aldosen dagegen positiv.
Papierchromatographie der Zucker:

System 1:
Papier: SS 2o43 b Mgl.
Fliessmittel: Butanol : Pyridin : Wasser = 6 : 4 : 3
Technik: absteigend, 2o Stunden.
Sichtbarmachender Zuckerflecken durch Besprühen des trockenen Chromatogramms mit einer butanolischen Anilinphthalat-Lösung und anschliessendes Erhitzen im Ofen auf 11o°. Dabei geben Aldohexosen braune, Aldopentosen rote Flecken.

System 2:
Papier: SS 2o43 b Mgl.
Fliessmittel: Butanol : Eisessig : Wasser = 4 : 1 : 1
Technik: absteigend, 86 Stunden.
Sichtbarmachen der Zucker wie oben.

462. Reaktion mit Tetranitromethan.

Auch bei der Substanz F führten wir die Reaktion mit Tetranitromethan in der von 4233 her bekannten Weise durch. Die positive Reaktion zeigt die Anwesenheit einer Doppelbindung in dem Genin-Anteil des Glycosids an.

463. Selendehydrierung des Genins aus F.

Ausführung der Reaktion und Aufarbeitung der Reaktionsprodukte erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie bei 4237.
Reaktionsdauer: auf 1oo Stunden erhöht.
Reaktionstemperatur: 33o°.

Das Ergebnis der Chromatographischen Aufarbeitung der Dehydrierungsprodukte findet sich in der Tabelle 9.

Tabelle 9. Chromatographie der Dehydrierungsprodukte des F-Genins.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		Fluoresz. im UV	Aussehen	UV-Absorptionsspektrum
1 - 3	Pentan	keine	farbl. Öl	Paraffin im IR-Spektr.
4 - 5	Pentan	-	- -	-
6	Pentan:Hexan 3:1	-	- -	-
7	Pentan:Hexan 1:1	-	- -	-
8	Pentan:Hexan 1:3	hellblau	farb. Öl	Gem. aus Napht.u.Phen.
9	Hexan	hellblau	farbl. Öl	Gem. aus Napht.u.Phen.
1o	Hexan:Benzol 8:2	blau	farbl. Öl	verschmiert.Phenanthr.
11	Hexan:Benzol 8:2	blau	farbl. Öl	Phenanthrenderivat F_{de}
12-13	Hexan:Benzol 8:2	blau	farbl. Öl	unrein.Phenanthrender.
14	Hexan:Benzol 6:2	grünlich	farbl. Öl	undefinierbar
15	Hexan:Benzol 4:2	grünlich	gelbl. Öl	undefinierbar
16	Hexan:Benzol 3:2	grün-gelb	gelbes Öl	undefinierbar
17	Benzol	grün-gelb	gelbes Öl	undefinierbar
18	Essigester	gelb	braunes Öl	undefinierbar
19-25	Essigester	gelb	braunes Wachs	undefinierbar

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S.

(1) E.Ernst, Revue Suisse de Zool. 66, 289 (1959).
(2) P.Bladon, H.B.Henbest u. G.W.Wood, J.Chem.Soc. 1952, 2737.
(3) E.Salkowski, Pflügers Arch.f.d.ges.Physiol. 6, 2o7 (1872).
(4) C.Lieberman, Ber.dtsch.chem.Ges. 18, 18o4 (1885).
(5) Halphen u. Hicks, J.Ind.Eng.Chem. 3, 86 (1911).
(6) J.Lifschütz, Ber.dtsch.chem.Ges. 41, 252 (19o8).
(7) J. Binkert, O.Schindler u. T.Reichstein, Helv.Chim.Acta 43, 1984 (196o).
(8) R.Neher u. A.Wettstein, Helv.Chim.Acta 34, 2278 (1951).
(9) L.Ruzicka, Exper. 9, 357 (1953).
(1o) R.A.Anderson jr.u. W.D.Seyfried, Anal.Chem. 2o, 998 (1948).
M.Fred u. R.Putscher, Anal.Chem. 21, 9oo (1949).
L.Bateman, J.I.Cunncen, J.M.Fabian u. H.P.Koch, J.Chem.Soc. 195o, 936.
(11) R.N.Jones u. A.R.H.Cole, J.Amer.Soc. 74, 5648 (1952).
(12) L.Ruzicka, O.Jeger et al, Helv.Chim.Acta 33, 672, 711, 1o5o (195o).
(13) H.Hirschmann, J.Amer.Chem.Soc. 75, 384o (1953).
(14) S.S.Friedland, G.H.Lane, R.T.Langmann, K.E.Train u. M.J. O'Neal, Anal.Chem. 31, 169 (1959).
(15) A.R.H.Cole, R.N.Jones u. K.Dobriner, J.Amer.Chem.Soc. 74, 5571 (1952).
(16) R.N.Jones, P.Humphries, F.Herling u. K.Dobriner, J.Amer.Chem.Soc. 73, 3215 (1951).
(17) L.F.Fieser, J.Amer.Soc. 75, 4395 (1953).
(18) C.Djerassi, R.R.Engle u. A.Bowers, J.Org.Chem. 21, 1547 (1956).
(19) R.B.Woodward, J.Amer.Chem.Soc. 64, 72 (1942).
R.B.Woodward, J.Amer.Chem.Soc. 63, 1123 (1941).
64, 76 (1942).
L.K.Evans u. A.E.Gillam, J.chem.Soc. 1941, 815.
J.chem.Soc. 1945, 432.

(2o) H.Reich, K.F.Crane u. S.J.Sanfilippo, J.biol.Chem. 198, 713 (1952); J.Org.Chem. 18, 822 (1953).
(21) L.u.M.Fieser, Steroide, Verlag Chemie, Weinheim, 1961, S.23.
(22) H.Kiliani, Ber.dtsch.chem.Ges. 63, 2866 (193o).
(23) A.Jeanes, C.S.Wise u. R.J.Dimler, Anal.Chem. 23, 415 (1951).

Lebenslauf.

Am 4. April 1932 wurde ich, Hans Schübel, als Sohn des kaufmännischen Angestellten Alfred Schübel und seiner Ehefrau Emma, geb. Frank, in Nürnberg geboren.

Nach der Übersiedelung meiner Eltern nach Würzburg besuchte ich dort vom September 1938 bis Juli 1942 die Volksschule und anschliessend bis Januar 1945 die Oberschule.

Da meine Eltern wegen der Kriegsereignisse nach Schopfloch (Mittelfranken) verzogen waren, setzte ich nach Kriegsende den Schulbesuch in Dinkelsbühl fort bis zum Abitur im Juli 1951.

Im November 1951 begann ich mit dem Studium der Chemie an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen. Am 19. Januar 1956 legte ich die Diplomchemiker-Vorprüfung und am 3. Juni 1958 den mündlichen Teil der Diplomchemiker-Hauptprüfung ab. Nach Fertigstellung meiner Diplomarbeit erhielt ich am 21. Dezember 1959 das Diplomzeugnis.

Während der letzten drei Jahre war ich zunächst Hilfsassistent und schliesslich Assistent für IR-Spektrometrie sowie Praktikumsassistent am Institut für Organische Chemie der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

Seit September 1962 bin ich verheiratet.

Dem Direktor des Schweizerischen Tropeninstituts zu Basel,

Herrn Professor Dr. R. Geigy,

danken wir herzlich für die grosszügige und zuvorkommende Überlassung der Termitensoldatenköpfe, aus denen wir das Ausgangsmaterial für dieses Arbeit gewinnen konnten.

Herrn Professor Dr. F. Korte und Herrn Dr. H. Weitkamp von der Shell - Forschung, Birlinghoven, danken wir bestens für die Anfertigung der Massenspektren.

GEDRUCKT BEI LUDWIG MÜLLER ERLANGEN